

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA METROPOLITANA  
UNIDAD XOCHIMILCO

DIVISIÓN DE CIENCIAS BIOLÓGICAS Y DE LA SALUD  
DEPARTAMENTO DE SISTEMAS BIOLÓGICOS

MAESTRÍA EN CIENCIAS FARMACÉUTICAS

LÍNEA DE INVESTIGACIÓN:  
DISEÑO DE FARMOQUÍMICOS

—  
“SÍNTESIS, CARACTERIZACIÓN Y EVALUACIÓN DE LA ACTIVIDAD ANTI-  
INFLAMATORIA DE DERIVADOS DE IBUPROFENO”  
—

COMUNICACIÓN IDÓNEA DE RESULTADOS PARA OBTENER EL GRADO DE  
MAESTRA EN CIENCIAS FARMACÉUTICAS

PRESENTA

QFB ALMA ROSA VARGAS SANTANA  
MATRÍCULA 209383059

COMITÉ TUTORIAL

TUTORA: M. EN C. OLIVIA SORIA ARTECHE  
ASESORA: DRA. TERESA IZQUIERDO SÁNCHEZ  
ASESORA: DRA. MARÍA CONCEPCIÓN LOZADA GARCÍA

2013

—

**“SÍNTESIS, CARACTERIZACIÓN Y EVALUACIÓN DE LA ACTIVIDAD  
ANTI-INFLAMATORIA DE DERIVADOS DE IBUPROFENO”**

VoBo



TUTORA: M. EN C. OLIVIA SORIA ARTECHE

VoBo



ASESORA: DRA. TERESA IZQUIERDO SÁNCHEZ

VoBo



ASESORA: DRA. MARÍA CONCEPCIÓN LOZADA GARCÍA

ALUMNA: QFB ALMA ROSA VARGAS SANTANA, 209383059




**“SÍNTESIS, CARACTERIZACIÓN Y EVALUACIÓN DE LA ACTIVIDAD ANTI-  
INFLAMATORIA DE DERIVADOS DE IBUPROFENO”**

**PRESIDENTE: DR. ALFONSO SEBASTIÁN LIRA ROCHA**

**VOCAL: DR. FRANCISCO JAVIER LÓPEZ MUÑOZ**

**SECRETARIO: M. EN C. OLIVIA SORIA ARTECHE**



*Olivia Soria Arteché*

## RESUMEN

El ibuprofeno es un fármaco de los más utilizados como anti-inflamatorio, antipirético y analgésico, que tiene un perfil de eficacia y seguridad en dosis terapéuticas, y con un bajo riesgo de presentar efectos adversos. El propósito del presente estudio fue realizar la síntesis de dos derivados del Ibuprofeno con asociaciones de tipo éster, un profármaco (ibuprofeno-ibuprofeno), y un híbrido (Ibuprofeno-curcumina).

Los compuestos finales y sus intermediarios fueron caracterizados espectroscópicamente y espectrométricamente para corroborar las estructuras propuestas, posteriormente se evaluó el efecto anti-inflamatorio del profármaco mediante el modelo del edema de la pata de ratón. En este modelo, el profármaco exhibe efecto anti-inflamatorio que, comparado con el fármaco precursor (ibuprofeno), mejora el perfil de respuesta de manera tiempo y dosis dependiente. Los resultados nos permiten concluir que el profármaco presenta un efecto anti-inflamatorio mejorado a la primera y tercera hora de haber inducido la inflamación a dosis menor, comparada con su precursor.

## AGRADECIMIENTOS INSTITUCIONALES

Agradezco a la M. en C. Olivia Soria Arteché por todas sus enseñanzas y consejos así como motivación para realizar este proyecto, a la Doctora Concepción Lozada García por el apoyo incondicional en el laboratorio y dirección en las metodologías realizadas, y a la Doctora Teresa Izquierdo Sánchez por ser más que una guía a nivel profesional, agradezco sinceramente la paz transmitida y la confianza otorgada.

Agradezco a los profesores, M. en C. José Raúl Medina López y Doctora Adriana Miriam Domínguez Ramírez por el apoyo otorgado en laboratorio de química analítica, al M. en C. Jaime Pérez Villanueva por ser un buen compañero-asesor de laboratorio, a mis amigos y compañeros, Zeltzin, Janet, Arturo, Verónica por hacerme tan cálida la permanencia en el laboratorio de síntesis orgánica, en donde la estancia ahí estuvo llena de momentos agradables, así como de intercambio de conocimientos, lo cual ha sido muy enriquecedor.

Agradezco a todos los profesores de las asignaturas impartidas en la maestría, al técnico laboratorista Julio Sánchez por la ayuda irremplazable de la manipulación de las unidades experimentales.

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología por el apoyo de la beca 38877.

## AGRADECIMIENTOS PERSONALES

La realización de la presente investigación pudo llevarse a cabo gracias al apoyo incondicional de las personas que más amo.

Mi pequeño gigante, Leonardo, ha sido el motor más importante para querer realizar este posgrado, y la culminación ha sido reforzada por la llegada de mi pequeña guerrera Romina, agradezco a mi esposo Ricardo por sensibilizar la fortaleza interna que siempre me ha acompañado.

Una de mis más grandes gratitudes es sin duda el apoyo de mi madre, Alma, por haber cuidado a uno de mis tesoros al inicio de este nuevo proyecto, gracias a sus consejos, los cuales fueron, han sido y serán un respaldo incomparable. Agradezco a mi padre por sus consejos y muestras de admiración que me ha demostrado, eso ha sido más que una motivación.

Agradezco a mis hermanos (Juvenal, Oswaldo, Arturo), tios (Elodia y Edgar) por brindarme tanto cariño y decirme las palabras adecuadas en el momento exacto de flaquezas.

Gracias a todos ustedes pude culminar este proyecto el cual no hubiera sido posible sin el gran apoyo otorgado que me acompañó a lo largo de este objetivo.

# ÍNDICE

<b>INTRODUCCIÓN</b>	<b>12</b>
<b>1. ANTECEDENTES</b>	<b>14</b>
1.1. ANTI-INFLAMATORIOS	14
1.1.1. Proceso inflamatorio	15
1.1.2. Anti-inflamatorios no esteroideos (AINEs)	19
1.1.2.1. Ibuprofeno, 1	21
1.1.2.1.1. Farmacocinética	24
1.1.2.1.2. Efectos secundarios	25
1.1.3. Curcumina, 2	26
1.1.3.1. Efecto de la curcumina en la respuesta inflamatoria	28
1.1.3.2. Farmacocinética	31
1.1.3.3. Efectos secundarios	33
1.2. PROFÁRMACO	33
1.2.1. Profármacos de anti-inflamatorios no esteroideos	35
1.2.2. Fármacos gemelos	37
1.3. COMPUESTOS HÍBRIDOS	38
1.3.1. Compuestos híbridos de anti-inflamatorios no esteroideos	44
1.4. REACCIONES QUÍMICAS DE ÁCIDOS CARBOXÍLICOS Y ÉSTERES	45
1.4.1. Reducción de ácidos carboxílicos	45

1.4.2.	Reducción de ésteres	46
1.4.3.	Esterificación	48
1.4.3.1.	Esterificación utilizando un catalizador ácido	48
1.4.3.2.	Esterificación con alcoholes	49
1.4.3.3.	Esterificación con halogenuros de ácido	50
1.4.3.4.	Esterificación con reactivos de acoplamiento	50
1.5.	EVALUACIÓN DE AGENTES ANTI-INFLAMATORIOS	53
<hr/>		
2.	PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA	55
<hr/>		
3.	HIPÓTESIS	56
<hr/>		
4.	OBJETIVOS	56
4.1.	OBJETIVO GENERAL	56
4.2.	OBJETIVOS PARTICULARES	56
<hr/>		
5.	METODOLOGÍA	57
5.1.	SÍSTESIS QUÍMICA	57
5.1.1.	Síntesis del profármaco, 2-(4-isobutilfenil)propanoato de 2-(4-isobutilfenil)propilo, 3.	57
5.1.2.	Síntesis de curcumina, (1E,4Z,6E)-5-hidroxi-1,7-bis(4-hidroxi-3-metoxifenil)hepta-1,4,6-trien-3-ona, 2.	58



5.1.3.	Síntesis del híbrido ibuprofeno-curcumina, 2-(4-isobutilfenil)propanoato de 4-[(1 <i>E</i> ,4 <i>Z</i> ,6 <i>E</i> )-5-hidroxi-7-(3- {[2-(4-isobutilfenil)propanoil]oxi}-4-metoxifenil)-3-oxohepta-1,4,6- trienil]-2-metoxifenilo, <b>4</b> .	<b>58</b>
5.2	EVALUACIÓN DEL EFECTO ANTIINFLAMATORIO DE LOS DERIVADOS DE IBUPROFENO	<b>59</b>
<b>6. DESARROLLO EXPERIMENTAL</b>		<b>61</b>
6.1.	SÍNTESIS QUÍMICA	<b>61</b>
6.1.1.	Síntesis de 2-(4-isobutilfenil)propanoato de 2-(4-isobutilfenil) propilo, <b>3</b>	<b>61</b>
6.1.1.1.	Síntesis de 2-(4-isobutilfenil)propanoato de metilo, <b>5</b>	<b>61</b>
6.1.1.2.	Síntesis de 2-(4-isobutilfenil)propan-1-ol, <b>6</b>	<b>63</b>
6.1.1.3.	Síntesis de 2-(4-isobutilfenil)propanoato de 2-(4-isobutilfenil) propilo, <b>3</b> —	<b>64</b>
6.1.2.	Síntesis de 2-(4-isobutilfenil)propanoato de 4-[(1 <i>E</i> ,4 <i>Z</i> ,6 <i>E</i> )-5- hidroxi-7-(3-[[2-(4-isobutilfenil)propanoil]oxi]-4-metoxifenil)-3- oxohepta-1,4,6-trienil]-2-metoxifenilo, <b>4</b> con CDI	<b>66</b>
6.1.2.1.	Síntesis de (1 <i>E</i> ,4 <i>Z</i> ,6 <i>E</i> )-5-hidroxi-1,7-bis(4-hidroxi-3- metoxifenil)hepta-1,4,6-trien-3-ona, <b>2</b> .	<b>66</b>
6.1.2.2.	Acoplamiento de <b>1</b> con CDI.	<b>67</b>
6.1.2.3.	Activación de <b>1</b> con SOCl <sub>2</sub>	<b>69</b>
6.2.	EVALUACIÓN DEL EFECTO ANTI-INFLAMATORIO	<b>70</b>

6.2.1.	Evaluación del efecto anti-inflamatorio de 2-(4-isobutilfenil) propanoato de 2-(4-isobutilfenil)propilo, 3, "ibuprofenato de ibuprofenilo"	70
<b>7.</b>	<b>RESULTADOS</b>	<b>73</b>
7.1.	SÍNTESIS QUÍMICA	73
7.1.1.	Síntesis y caracterización de Ibuprofenato de metilo, 5	73
7.1.2.	Síntesis y caracterización de Ibuprofenol, 6	74
7.1.3.	Síntesis y caracterización de Ibuprofenato de ibuprofenilo, 3	75
7.1.4.	Síntesis y caracterización de curcumina, 2	76
7.1.5.	Síntesis y caracterización del híbrido Ibuprofeno-curcumina, 4	76
7.2.	EVALUACIÓN DEL EFECTO ANTI-INFLAMATORIO.	77
7.2.1.	Curso temporal (CT) y Curva Dosis-Respuesta (CDR) de ibuprofeno,1	77
7.2.2.	Curso temporal (CT) y Curva Dosis-Respuesta (CDR) de Ibuprofenato de ibuprofenilo, 3.	81
<b>8.</b>	<b>DISCUSIÓN</b>	<b>86</b>
8.1.	SÍNTESIS QUÍMICA.	86
8.1.1.	Síntesis y caracterización de Ibuprofenato de metilo, 5	86
8.1.2.	Síntesis y caracterización de Ibuprofenol, 6	86
8.1.3.	Síntesis y caracterización de Ibuprofenato de ibuprofenilo, 3	87
8.1.4.	Síntesis y caracterización de curcumina, 2	88

8.1.5.	Síntesis y caracterización del híbrido Ibuprofeno-curcumina, 4	89
8.2.	EVALUACIÓN DEL EFECTO ANTI-INFLAMATORIO.	90
9.	CONCLUSIONES	96
10.	BIBLIOGRAFÍA	97
11.	ANEXOS	110

## INTRODUCCIÓN

Los anti-inflamatorios no esteroideos (AINEs) son un grupo terapéutico de mayor utilización a nivel mundial, ya sea por prescripción o por automedicación, se encuentran asociados a las lesiones gastrointestinales de tipo ulcerogénicas, diversos reportes respaldan que éstas son inducidas por el ácido carboxílico que algunos de estos fármacos presentan en su estructura química.

El ibuprofeno pertenece al grupo de los AINEs, existe como una mezcla diastereoisomérica de la forma *S*(+) y *R*(-). La mezcla *S/R* se caracteriza entre otros mecanismos ya descritos, por un efecto inhibitor de la síntesis de prostaglandinas (PGs). Su eficacia como analgésico y antipirético es considerada comparable a la del paracetamol. Su uso en control agudo del dolor, en pediatría en manejo de la fiebre, y en respuestas inflamatorias agudas ha sido ampliamente documentado. Se han sustentado algunas ventajas de relevancia terapéutica, ya que se considera con menores eventos tóxicos que otros fármacos de su grupo, con un perfil bajo de efectos adversos de tipo gastrointestinales, y eficacia aceptable a dosis bajas (menores de 1,200 mg/día). Se ha sugerido que las lesiones gástricas causadas por ibuprofeno no son únicamente debido a la inhibición de la COX-1, si no causadas por la irritación local de la mucosa debido al grupo ácido carboxílico que presenta su molécula.

Con el propósito de reducir el daño gástrico causado por el grupo carboxílico y mejorar la eficacia farmacológica, en este estudio nos proponemos sintetizar dos

derivados de tipo éster: un profármaco, ibuprofeno-ibuprofeno (ibuprofenato de ibuprofenilo) y un híbrido, ibuprofeno-curcumina. Para evaluar la eficacia de los compuestos sintetizados utilizamos un modelo experimental de inflamación en ratón.

# 1. ANTECEDENTES

## 1.1. ANTI-INFLAMATORIOS

Existen tres grupos de fármacos anti-inflamatorios (Figura 1):

1. Corticosteroides, como cortisol (endógenos), prednisona, prednisolona, betametasona.<sup>1</sup>
2. Anti-inflamatorios no esteroideos (AINEs), tal como ibuprofeno, naproxeno, indometacina, entre otros.<sup>1,2</sup>
3. Sustancias activas de origen natural, como lo son curcumina,<sup>3</sup> huperzina<sup>4</sup> y safrol.<sup>5</sup>

Estos grupos son empleados para modificar y/o inhibir el proceso inflamatorio.

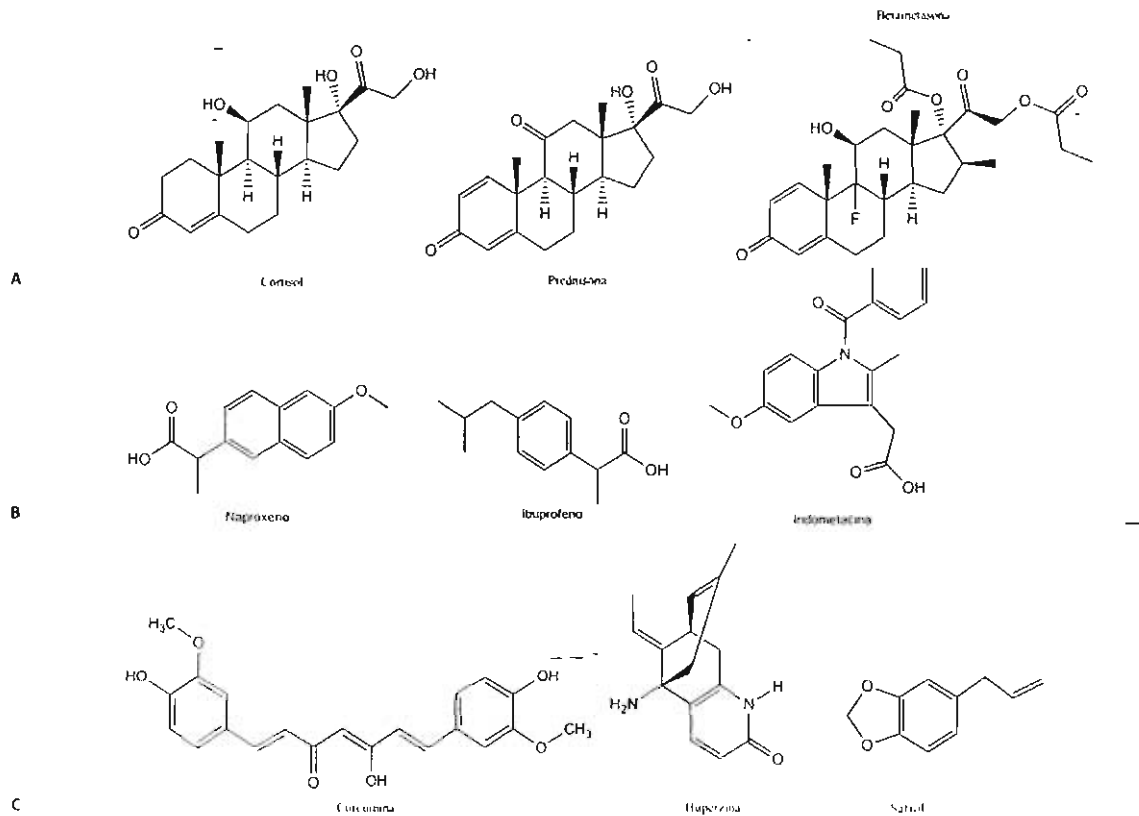


Figura 1. Estructuras de compuestos anti-inflamatorios. A: corticosteroides, B: Anti-inflamatorios no esteroideos y C: productos naturales.

### 1.1.1. Proceso inflamatorio

El proceso inflamatorio (del latín *inflammare*) es un mecanismo homeostático autorregulatorio en respuesta a estímulos nocivos, se produce al activar vías de respuesta, adaptación y reparación del tejido altamente reguladas.<sup>6</sup>

Este mecanismo es defensivo natural, por medio del cual un tejido vascularizado responde a los estímulos internos o externos que han lesionado su integridad.<sup>1</sup> Es un proceso complejo, que se presenta como respuesta por diversas causas, tales como infecciones o estímulos generadores de lesión tisular (traumáticos, tóxicos, isquémicos, autoinmunes, etcétera).<sup>6,7</sup> La respuesta se inicia inmediatamente después de que las células dañadas liberan enzimas de su citoplasma y provocan la activación a su alrededor de varios sistemas de proteínas pro-inflamatorias. Como una consecuencia, se sintetizan una serie de mediadores que actúan en los vasos sanguíneos, provocando un aumento tanto del flujo de sangre como de la permeabilidad capilar alrededor del sitio de la lesión.<sup>8</sup>

En este proceso se genera la liberación de mediadores lipídicos pro-inflamatorios (prostaglandinas, leucotrienos y tromboxanos) (Diagrama 1),<sup>9</sup> aminoácidos modificados (histamina, serotonina) y pequeñas proteínas (citoquinas, factores de crecimiento, interleucinas), que interaccionan de manera específica con las células mediante mecanismos definidos en la membrana plasmática.<sup>6,8</sup>

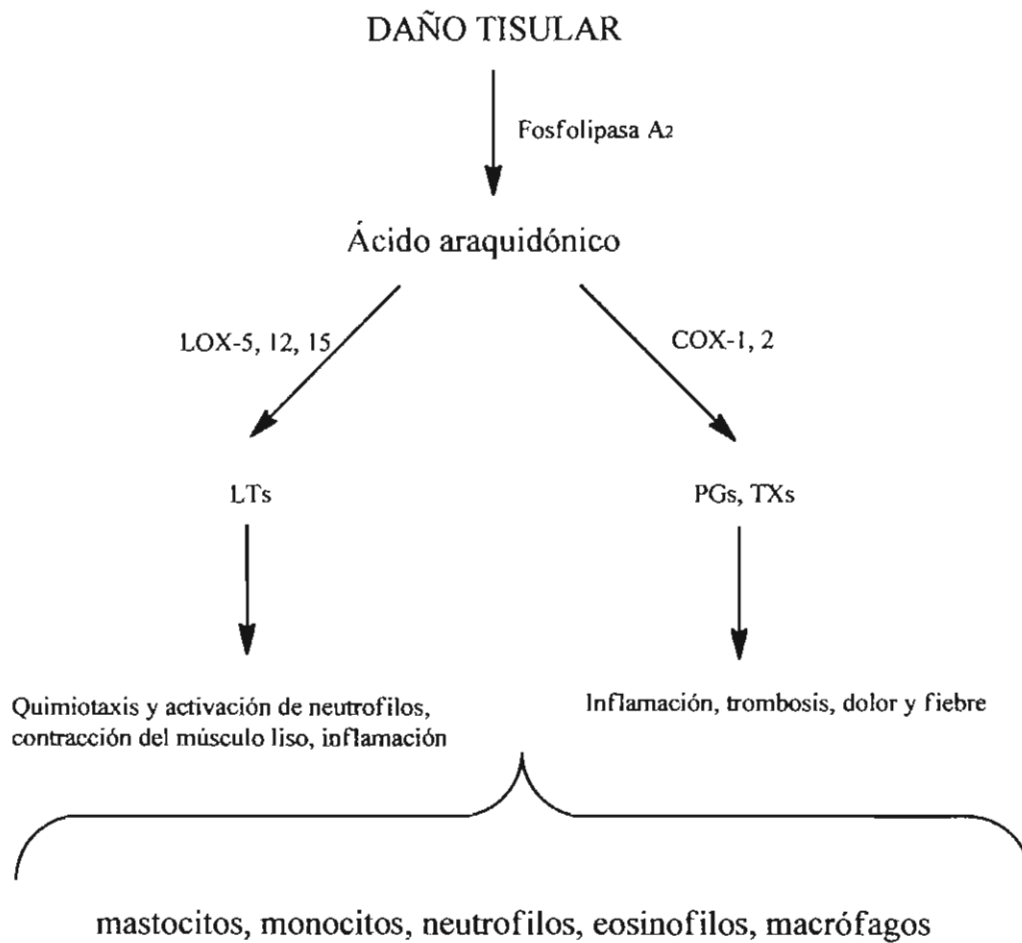
En el Diagrama 2 se observa la ruta biosintética de las prostaglandinas,<sup>10</sup> estos mediadores se sintetizan en células como mastocitos, monocitos/macrófagos,

eosinófilos y neutrófilos, a partir de los ácidos grasos esenciales en particular el ácido araquidónico, por la acción de ciclooxigenasas (COX) las cuales tienen una acción proinflamatoria, los leucotrienos (LTs) por las lipo-oxigenasas (LOX), el tromboxano (TXS), por la tromboxano sintasa.<sup>11</sup>

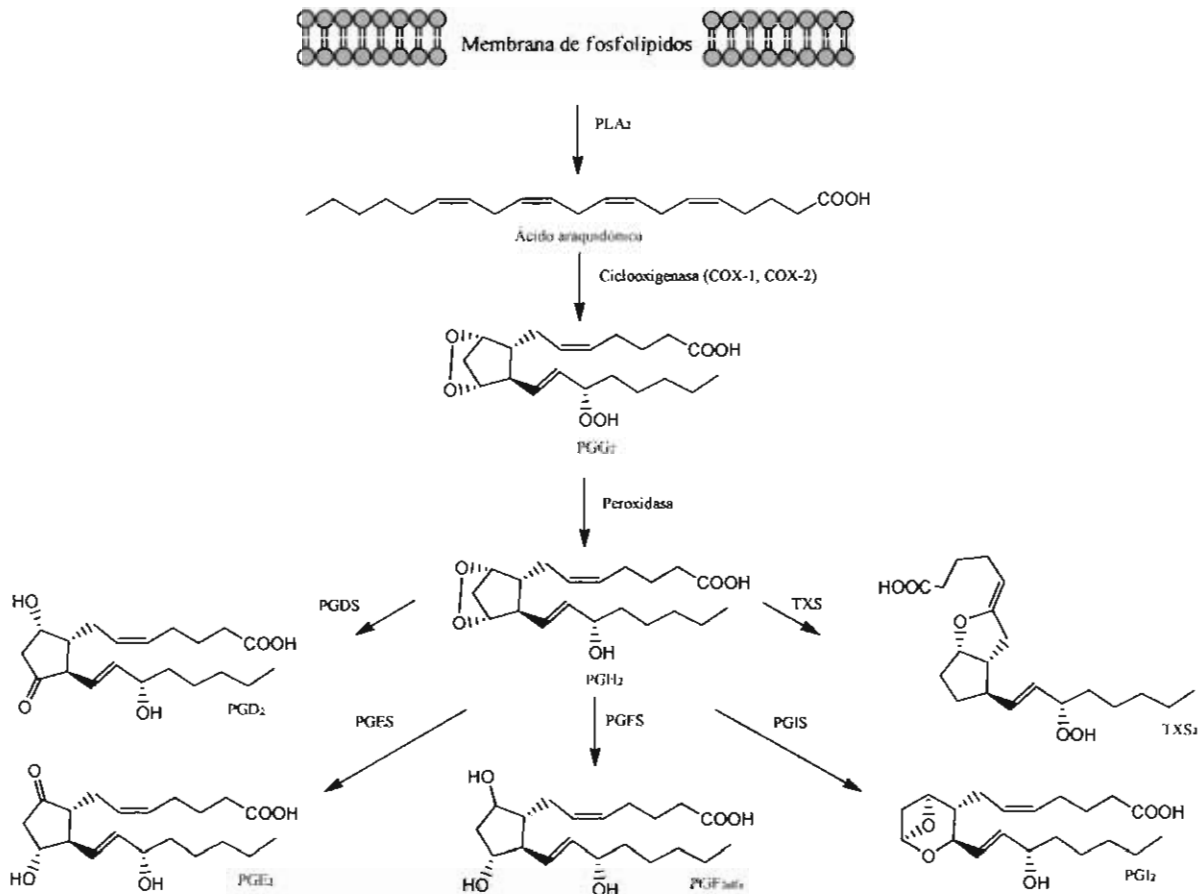
Se conocen tres isoformas de ciclooxigenasa, **COX-1** esta es una enzima constitutiva localizada en todos los tejidos; **COX-2**, es una enzima inducible, que se encuentra constitutivamente pero en bajas cantidades, localizada en el riñón, testículos, cerebro y células epiteliales de la tráquea<sup>12,13</sup> y la **COX-3** localizada fundamentalmente en el corazón y la corteza cerebral.<sup>14</sup>

Específicamente la COX-1 regula en gran medida la producción de metabolitos del ácido araquidónico necesarios para mantener la integridad fisiológica,<sup>15</sup> incluyendo la citoprotección gástrica a través de la prostaciclina (PGI<sub>2</sub>), mientras que la COX-2 se induce por estímulos inflamatorios y es responsable de la producción de mediadores eicosanoides asociados con la respuesta inflamatoria y dolor.<sup>16</sup>





**Diagrama 1.** Sistema que activa a los mediadores lipídicos del proceso inflamatorio.



**Diagrama 2.** Ruta biosintética de las prostaglandinas. PLA<sub>2</sub> fosfolipasa A<sub>2</sub>; COX, ciclooxigenasa; PG, prostaglandina; PGDS, prostaglandina D<sub>2</sub> sintasa; PGES, prostaglandina E<sub>2</sub> sintasa; PGFS, prostaglandina F<sub>2α</sub> sintasa; PGIS, prostaglandina I<sub>2</sub> sintasa; TXS, tromboxano A<sub>2</sub> sintasa; TXA<sub>2</sub>, tromboxano A<sub>2</sub>.<sup>10</sup>

A pesar de que la respuesta inflamatoria aguda es necesaria para mantener la salud y la integridad física de los organismos superiores, cuando se prolonga su duración, es posible que aumente la lesión tisular y que aparezcan nuevos síntomas, por ejemplo: inflamación crónica, formación de tejido fibroso, pérdida de funcionalidad, dolor continuo, intenso e incontrolable.<sup>6</sup>

Esto ocurre en la mayoría de las enfermedades crónicas, incluyendo las neurodegenerativas, cardiovasculares, pulmonares, metabólicas, enfermedades

autoinmunes y neoplásicas.<sup>3</sup> Por lo tanto, la propuesta es modular la síntesis de los mediadores pro-inflamatorios.

### **1.1.2. Anti-inflamatorios no esteroideos (AINEs)**

Los anti-inflamatorios no esteroideos (AINEs), son uno de los grupos que se administran para la regulación de los procesos inflamatorios y analgesia, son utilizados por prescripción o venta libre; diclofenaco, indometacina, paracetamol e ibuprofeno, son ejemplos de ellos.<sup>2</sup> Este grupo de fármacos tienen múltiples mecanismos de acción,<sup>17</sup> entre ellos:

- Inhibición de la síntesis de prostaglandinas
- Activación de la vía L-arginina-óxido nítrico-GMPc
- Activación de la vía opioide
- Activación de la vía serotoninérgica
- Activación de la vía noradreninérgica
- Activación de la vía colinérgica
- Inhibición de actividad de canales sensibles a ácidos
- Incremento en niveles de endocannabinoides
- Inhibición de las COX

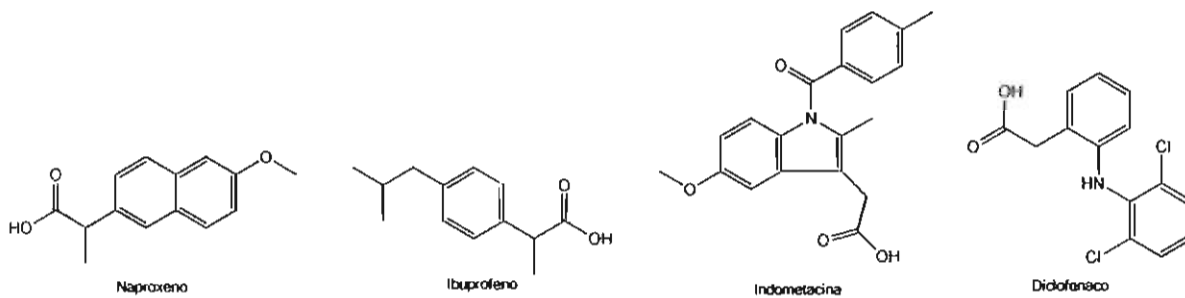
La inhibición de COX es uno de los mecanismos de acción anti-inflamatoria más estudiados.<sup>1</sup> Al inhibir la actividad de cualquiera de estas enzimas se inhibe la biosíntesis de prostaglandinas y lípidos relacionados con mediadores del proceso

inflamatorio.<sup>10</sup> Su administración puede ser por diferentes vías pero preferentemente se administra por vía oral.<sup>2</sup>

Los anti-inflamatorios no esteroideos no selectivos para COX-2 (ácido acetil salicílico, diclofenaco y naproxeno, p. ej.), son comúnmente usados para patologías cuyos procesos inflamatorios son crónicos.<sup>18</sup> Estos fármacos pueden ocasionar efectos adversos de leves a severos tales como, lesiones gastrointestinales tipo ulcerogénicas,<sup>2,18</sup> alteraciones de la función renal,<sup>11,19</sup> presión sanguínea,<sup>6,19</sup> lesión hepática<sup>19</sup> e inhibición de plaquetas<sup>12,18</sup> que puede producir hemorragias gástricas de leves a severas.<sup>18</sup>

Las lesiones gastrointestinales son de los efectos adversos más frecuentes, que se derivan por varios factores, uno de ellos es provocado por la presencia del grupo ácido carboxílico contenido en la molécula del principio activo.<sup>20</sup> Algunos principios activos como es el caso de ibuprofeno, naproxeno, indometacina y diclofenaco, contienen en su estructura ácidos carboxílicos,<sup>2</sup> Figura 2. Este tipo de fármacos son ácidos orgánicos débiles con carácter liposoluble que a pH bajos en la luz gástrica, penetran con facilidad la capa lipídica protectora de las células que recubren la mucosa gástrica.<sup>19</sup> Sin embargo a un pH más alto del ambiente intracelular, los compuestos se ionizan, y quedan atrapados en las células, lo cual se conoce como atrapamiento iónico.<sup>19</sup> Una concentración más alta de compuestos dentro de la célula cambia la permeabilidad de su membrana, permitiendo una entrada mayor de iones hidrógeno, ocasionando dolor por un aumento de protones (acidosis) y daño tisular.<sup>19</sup>

Los AINEs no selectivos para COX-2 pueden inhibir cualquiera de las isoformas de las COX (COX-1 y COX-2) en diversos grados.<sup>16</sup>



**Figura 2.** Estructuras de anti-inflamatorios no esteroideos que tienen en su estructura el grupo ácido carboxílico.

Se ha descrito una elevada asociación entre la ingesta crónica de estos fármacos con pequeñas lesiones en la mucosa intestinal.<sup>2</sup> Debido a las alteraciones gastrointestinales que inducen los AINEs que contienen en su estructura un grupo ácido carboxílico, las investigaciones de los últimos años han dado origen a la búsqueda de nuevas moléculas derivadas de AINEs cuya eficacia ha sido comprobada tras los años de uso, tales como profármacos y compuestos híbridos, que presenten menor riesgo de daño gástrico *in situ* provocado por el grupo ácido carboxílico.

#### 1.1.2.1. Ibuprofeno, 1

Pertenece a la familia de los ácidos propiónicos, es uno de los fármacos de mayor prescripción entre los AINEs, fue introducido a principios de los años 70's.<sup>1</sup> Posee acción analgésica a dosis bajas y anti-inflamatoria a dosis altas.<sup>19</sup> Las dosis recomendadas varían desde 5 a 10 mg/kg cada 4-6 horas, con una dosis máxima de 40 mg/kg/día ó 2400 mg al día.<sup>19</sup>

Este ácido debido a la presencia de un carbono quiral, existe en dos formas enantiómeras (Figura 3). Se administra como mezcla racémica enantiomérica, en la que el enantiómero *S*(+) representa la entidad más activa comparada con el *R*(-), esta entidad activa actúa como inhibidor de la biosíntesis de prostanoïdes de la enzima COX,<sup>21</sup> sin embargo, la actividad anti-inflamatoria y analgésica no pueden ser atribuido únicamente a este enantiómero.<sup>22</sup> Se ha asumido que el mecanismo de acción del enantiómero *S* es vía inhibición dual de COX-1 y COX-2 en plaquetas y monocitos en concentraciones terapéuticas. El enantiómero *R* presenta una menor potencia inhibitoria de COX-1 y no inhibe a COX-2.<sup>23</sup>

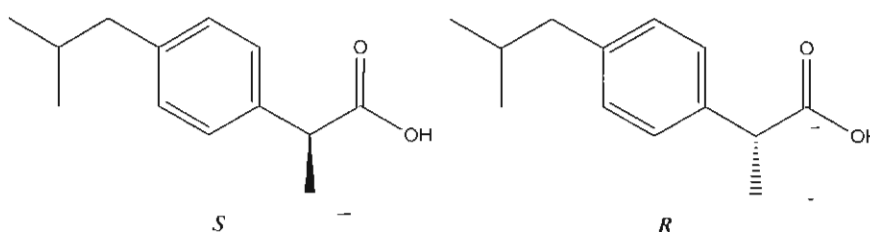


Figura 3. Enantiómeros de *S*(+) y *R*(-) ibuprofeno

La mezcla *S/R* tiene un efecto inhibidor de la síntesis de prostaglandinas (PGs),<sup>24</sup> mediante un mecanismo inhibitorio no selectivo de la enzima COX. Scheuren y col., (1998) demostraron este mecanismo, encontrando que el ibuprofeno tanto en la forma enantiomérica *S* como *R* inhiben de manera específica la activación del factor nuclear kappa beta (NF-κB).<sup>25</sup>

Otro efecto inhibitorio independiente de COX es bloqueando la inflamación dependiente de la expresión de los canales iónicos para H<sup>+</sup> (canales de protones

ASICs), específicamente es activo para corrientes en ASIC1a (presentes en fibras grandes A $\beta$ ).<sup>26</sup>

Ibuprofeno inhibe la migración de leucocitos por su acción en células endoteliales, como cambios en la expresión de moléculas de adhesión así como la inhibición de la expresión de moléculas de adhesión tipo 1 (VCAM-1), y en menor grado de la expresión de la molécula de adhesión intracelular tipo 1 (ICAM-1).<sup>27, 28</sup> En un modelo experimental ibuprofeno promovió un efecto inhibitorio de la migración de polimorfonucleares (PMN).<sup>29</sup>

Ibuprofeno presenta un índice terapéutico seguro y únicamente presenta toxicidad a dosis altas.<sup>30</sup> Presenta un índice gastrotóxico de menor magnitud comparado con otros fármacos del grupo de los AINEs.

Se han sustentado algunas ventajas de relevancia terapéutica, ya que se considera con menores eventos tóxicos que otros de su grupo, con un perfil bajo de efectos adversos de tipo gastrointestinales, y eficacia aceptable a dosis bajas (menores de 1,200 mg/día).<sup>31</sup>

Su eficacia como analgésico y antipirético es considerada comparable a paracetamol. Su uso en control agudo del dolor, en pediatría en manejo de la fiebre, y en respuestas inflamatorias agudas ha sido ampliamente documentado.<sup>32</sup>

### 1.1.2.1.1. Farmacocinética

El ibuprofeno, 1, es un fármaco que presenta una farmacocinética de tipo lineal dosis-respuesta entre la cantidad de fármaco administrado y el área bajo la curva de la concentración plasmática después de una única dosis (200-800 mg).<sup>33,34</sup>

#### Absorción

Se absorbe rápidamente en el tracto gastrointestinal superior aproximadamente en un 80%, se distribuye a tejidos y pasa lentamente por la sinovial, este punto es esencial en el tratamiento de enfermedades reumáticas por ser un sitio importante en el tratamiento de estas afecciones.<sup>16</sup>

La administración de ibuprofeno con alimentos retrasa el tiempo máximo de absorción ( $t_{max}$ ) aunque esto no tiene efectos sobre la magnitud de la absorción.<sup>34</sup>

La concentración plasmática máxima ( $C_{max}$ ) es de 54.63 ng/mL, el  $t_{max}$  es de 1.5 h y la biodisponibilidad ( $ABC^{0-m}$ ) es de 190.4 ng.h/mL.<sup>33</sup> El tiempo de vida media plasmática después de su administración es de ( $t_{1/2}$ ) 2h en niños de 3 a 10 años<sup>16</sup> y en adultos es de 1.3 a 2.7 h.<sup>33,34</sup>

#### Distribución

El volumen aparente de distribución de ibuprofeno después de administración oral es de 0.1 a 0.2 L/kg, con una fuerte unión a proteínas plasmáticas en un 99%.<sup>16,34</sup>



Se une a la albúmina sérica en el sitio primario 2 subdominio IIIA y un enlace secundario en la interfase de los dominios IIA y IIB.<sup>35</sup>

## Metabolismo

Ibuprofeno se metaboliza por biotransformación oxidativa y glucuronidación.<sup>19</sup> Es ampliamente metabolizado en el hígado por hidroxilación y carboxilación<sup>36</sup> del grupo isobutilo, por acción del CYP2C9<sup>33,36</sup> y CYP2C8<sup>34</sup>. Sus metabolitos, Figura 4, carecen de actividad farmacológica.<sup>34</sup>

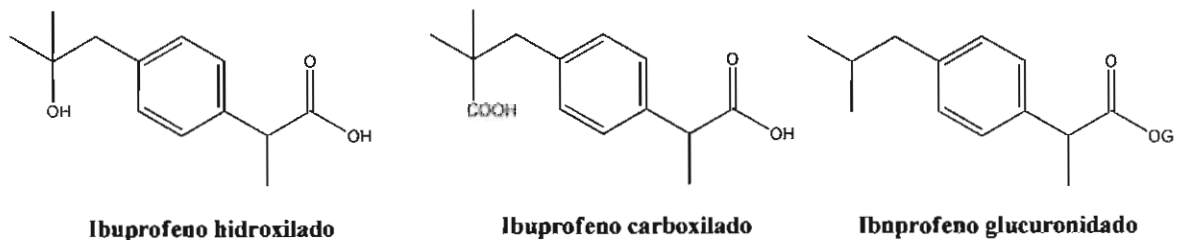


Figura 4. Metabolitos de ibuprofeno.

## Eliminación

La eliminación de ibuprofeno tiene lugar principalmente a nivel renal a las 24 horas, un 10% aproximadamente se elimina como ibuprofeno libre y un 90% se elimina en forma de metabolitos inactivos, principalmente como glucurónidos.<sup>34</sup>

### 1.1.2.1.2. Efectos secundarios

Tiene efectos secundarios en el aparato gastrointestinal en donde ocasiona erosión en el 5-15% de los pacientes, puede provocar cuadros de meningitis aséptica (en

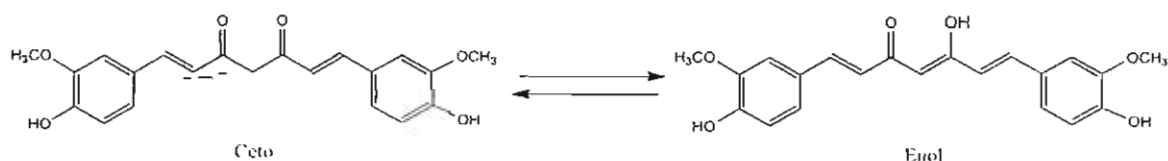
especial en pacientes con lupus eritomaso) y puede provocar síndrome de Stevens-Johnson.<sup>16</sup>

Se ha sugerido que las lesiones gástricas causadas por ibuprofeno no son únicamente debido a la inhibición de la COX-1, si no causadas por la irritación local de la mucosa debido al grupo ácido carboxílico que presenta su molécula.<sup>37</sup>

Gambero y colaboradores realizaron<sup>38</sup> una investigación en ratas utilizando el modelo del edema con carragenina y reportaron que a dosis terapéuticas (100-1000 mg/kg) el ibuprofeno provoca lesión ulcerogénica. A una dosis de 60 mg/kg reduce la infiltración de los leucocitos y a dosis de 100-1000 mg/kg reduce la migración celular de polimorfonucleares (PMN). Inhibe el 80% de producción de PGE<sub>2</sub> a una dosis de 22.68 mg/kg e inhibe el 80% de síntesis de TXB<sub>2</sub> a una dosis de 41.88 mg/kg.

### 1.1.3 CURCUMINA, 2

Entre las moléculas farmacológicamente activas de origen natural que han demostrado tener beneficios terapéuticos para la regulación de los procesos inflamatorios, se encuentra la curcumina, 2. (Esquema 1)



Esquema 1. Equilibrio ceto-enólico de la curcumina, 2.

La curcumina ((1E,4Z,6E)-5-hidroxi-1,7-bis(4-hidroxi-3-metoxifenil)hepta-1,4,6-trien-3-ona), **2**, es un polifenol lipofílico<sup>39,40,41</sup> que se extrae de la raíz de la especie *Curcuma longa*.<sup>42</sup> En este proceso de extracción se obtienen dos curcuminoides más, la bis-demetoxicurcumina y demetoxicurcumina,<sup>41</sup> el rendimiento obtenido de la extracción de la mezcla de los curcuminoides oscila entre 3-7%.<sup>42</sup>

La curcumina también pueda ser obtenida por síntesis vía condensación aldólica de la vainillina y acetilacetona.<sup>43</sup> En 1964 Pabón realizó la síntesis de curcumina mediante este tipo de condensación.<sup>43</sup>

La curcumina, es conocida como un antioxidante,<sup>44</sup> Su efecto anti-inflamatorio fue identificado hace más de un siglo.<sup>45</sup> Se ha demostrado que regula numerosos factores de transcripción, citocinas, proteincinasas, moléculas de adhesión, modula el estado redox y la actividad de enzimas relacionadas con la inflamación.<sup>46</sup>

Sugiyama y col.<sup>47</sup> y Chen y col.<sup>48</sup> han reportado que la presencia de la dicetona y especialmente los grupos hidroxilos de los fenoles de la estructura de la curcumina, le confieren la capacidad antioxidante.

Los antioxidantes son moléculas que pueden neutralizar radicales libres (RL), las cuales son especies reactivas de oxígeno (ERO) y especies reactivas de nitrógeno (ERN) generados por procesos fisiológicos generales incluyendo respiración oxidativa, crecimiento, regeneración y apoptosis celular. Cuando los niveles de

productos de oxidación superan la capacidad de los sistemas antioxidantes normales, se produce estrés oxidativo.<sup>49,50,51</sup>

El estrés oxidativo contribuye significativamente a la patogénesis de la respuesta inflamatoria de enfermedades cardiovasculares, cáncer, diabetes enfermedad del Alzheimer, cataratas, autismo y envejecimiento.<sup>49,50</sup>

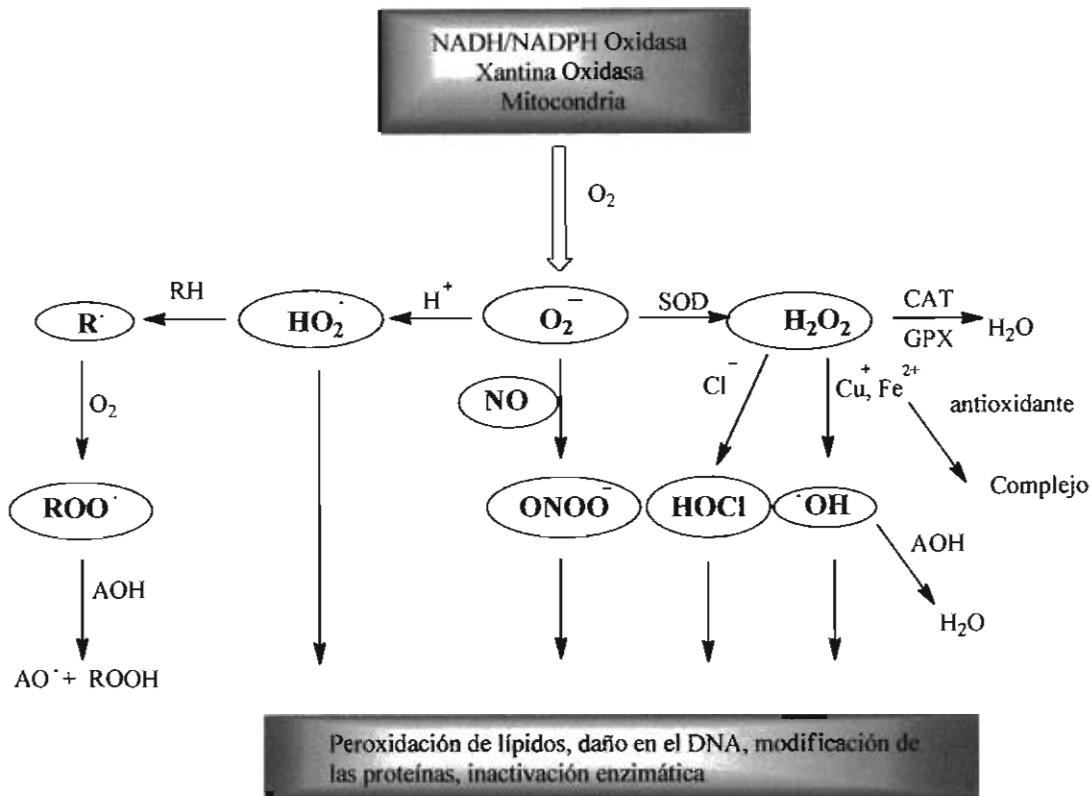
La neutralización por parte de los agentes antioxidantes se lleva a cabo aceptando o donando electrones, eliminando así la condición impar del radical. Estas moléculas pueden directamente reaccionar con los radicales libres y destruirlos o bien convertirse en radicales menos activos y posteriormente ser neutralizados por otros antioxidantes para su total eliminación, Diagrama 3.<sup>47,49</sup>

Se ha reportado que curcumina tiene eficacia terapéutica con: la enfermedad de Alzheimer (EA),<sup>50,52</sup> enfermedad de Parkinson, esclerosis múltiple, epilepsia, lesiones cerebrales, enfermedades cardiovasculares, cáncer, alergia, asma, bronquitis, colitis, artritis reumatoide, isquemia renal, psoriasis, diabetes, obesidad, depresión, fatiga y el SIDA.<sup>3,53</sup>

#### **1.1.3.1 Efecto de la curcumina en la respuesta inflamatoria**

La curcumina puede suprimir la inflamación mediante múltiples vías. Bloquea la activación del NF- $\kappa$ B.<sup>3,54</sup> y por ello inhibe la producción de mediadores pro-inflamatorios como: interlucina 8 (IL-8), MIP-1 $\alpha$ , MCP-1, IL-1 $\alpha$  y factor de necrosis

tumoral alfa (TNF- $\alpha$  por sus siglas en inglés *tumor necrosis factor*) inducida por estímulos inflamatorios en monocitos de sangre periférica y alveolar humana.<sup>3</sup>



**Diagrama 3. Especies reactivas de oxígeno (ROS) y antioxidantes.** Anión superóxido, O<sub>2</sub><sup>-</sup>; radical perhidroxilo, HO<sub>2</sub><sup>•</sup>; radical hidroxilo, OH; peróxido de hidrógeno, H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>; óxido nítrico, NO; ácido hipocloroso HOCl, peroxinitrito, ONOO<sup>-</sup>; radical alquilo de lípidos, R; lípido, RH; Radical peróxido de lípidos, ROO<sup>•</sup>; Hidroxiperóxido de lípidos, ROOH; superóxido dismutasa, SOD; catalasa, CAT y glutatión peroxidasa, GPX.<sup>49</sup>

Se ha demostrado que la curcumina regula la expresión de los productos del gen NF- $\kappa\beta$ <sup>49</sup>, así como el de la COX-2, TNF- $\alpha$ , 5-LOX, la IL-1, IL-6, IL-8, MIP-1 $\alpha$ , moléculas de adhesión, la proteína C-reactiva (PCR), CXCR-4, e inhibe la actividad de COX-2 y 5-LOX y de STAT 3, otro factor de transcripción de citocinas pro-inflamatorias como IL-6.<sup>3</sup>

Los blancos moleculares en donde interfiere la curcumina, involucran la inhibición de rutas implicadas en los procesos neurodegenerativos y tiene efecto de citoprotección (neuroprotección) en fase dos, co-interactuando con radicales libres los cuales causan daño neuronal. Modula la activación de diversos factores de transcripción y regula la activación de enzimas inflamatorias, citocinas, moléculas de adhesión (Diagrama 4).<sup>44</sup>

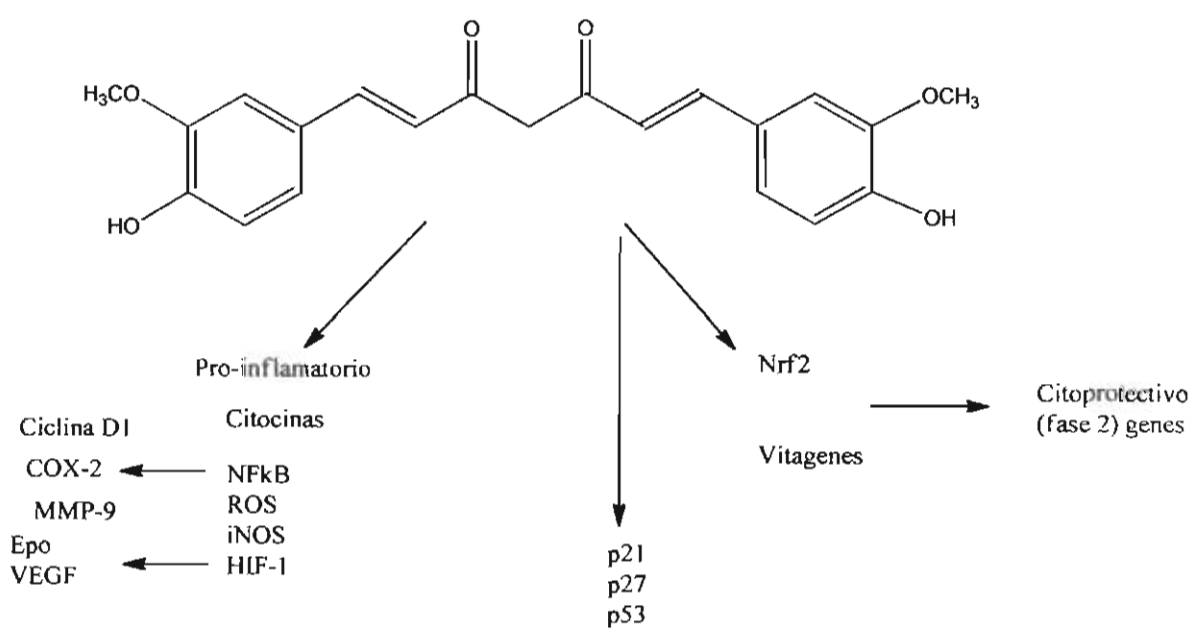


Diagrama 4. Blancos donde interfiere la curcumina.<sup>44</sup>

### 1.1.3.2. Farmacocinética

La curcumina presenta baja biodisponibilidad,<sup>55</sup> las principales razones atribuidas a esto, es a su baja absorción y debido a que la glucuronidación hepática lo hace altamente hidrosoluble, por lo que la eliminación sistémica es rápida.<sup>39,46</sup>

#### Absorción

La curcumina es muy estable a pH ácido del estómago<sup>56</sup> alrededor de 40-80% de este compuesto se retiene en el tracto gastrointestinal.<sup>44</sup> Tiene metabolismo de primer paso lo que limita su biodisponibilidad, la co-administración de curcumina con piperidina incrementa su biodisponibilidad debido a que esta última inhibe la UDP-glucuronil transferasa.<sup>57</sup>

En estudios preclínicos en ratas, se ha administrado 1g/kg de peso y en concentraciones plasmáticas se obtiene tan solo 0.5 µg/mL.<sup>44</sup>

En estudios clínicos con pacientes se le ha administrado dosis entre 0.5-8 g/día por tres meses y la concentración plasmática obtenida es de  $1.75 \pm 0.8$  µM.<sup>44</sup>

#### Distribución

En ratas el volumen de distribución es de 190 L, lo que sugiere que curcumina es acumulada en otros tejidos como el colorrectal, hígado y cerebro.<sup>44</sup>

#### Metabolismo

Estudios en roedores y en humanos han mostrado que la curcumina después de una administración oral, se biotransforma en curcumina glucuronidada y sulfato de curcumina, también es reducida a dihidrocurcumina (DHC), tetrahydrocurcumina

(THC), hexahidrocurcumina, octanohidrocurcumina y hexahidrocurcuminol, Figura 5.<sup>55,58</sup>

La curcumina, DHC y THC pueden ser convertidos a conjugados monoglucurónidos, esos cambios no sólo ocurren en el hígado sino también en el tracto gastrointestinal.<sup>58</sup>

Tanto en roedores como en humanos, la curcumina inhibe enzimas del citocromo P450, glutatión-S-transferasa (GST) y UDP-glucuronosiltransferasa.<sup>59,60</sup>

### Eliminación

En ratas, la curcumina es excretada por bilis, heces y muy poco por orina; y su  $t_{1/2}$  de eliminación es de 1.5 h.<sup>44</sup>

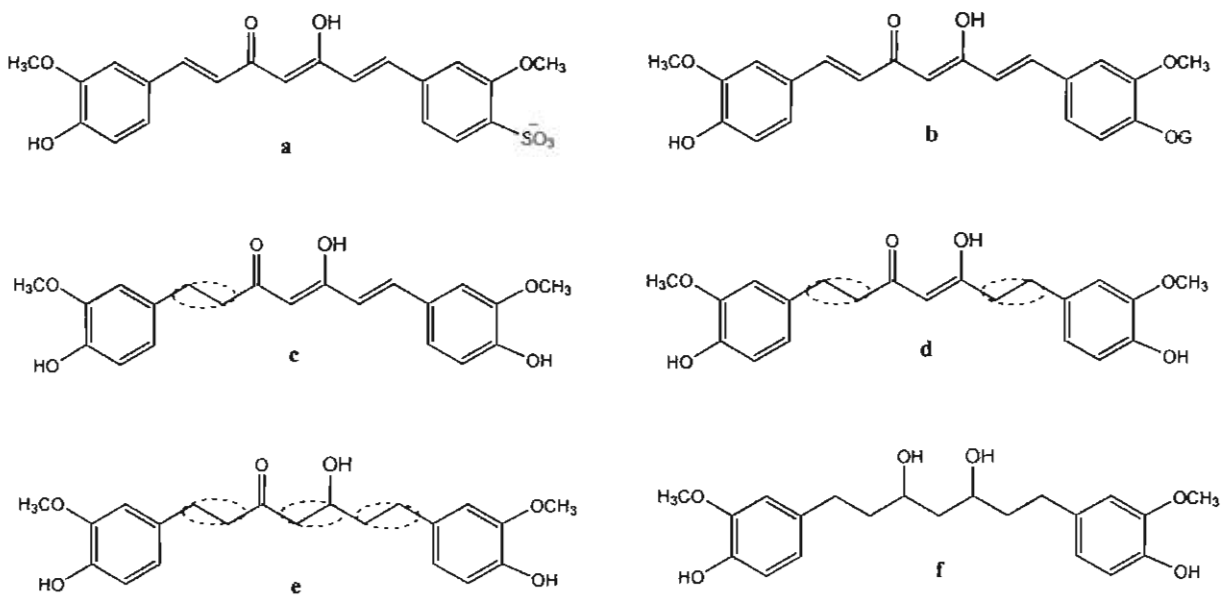


Figura 5. Metabolitos de curcumina.<sup>55</sup>



### 1.1.3.3. Efectos secundarios

En estudios preclínicos se ha observado que la curcumina no presenta toxicidad, tal es el caso de los estudios a roedores y primates con dosis de 3.5 g/kg administrado en un periodo de tres meses.<sup>44</sup>

En dosis de 8 g/día, por vía oral durante un periodo de tres meses, la curcumina no mostró efectos tóxicos, lo cual le otorga categoría de una sustancia no tóxica.<sup>61</sup>

Por lo anterior, curcumina ha sido objeto de estudio para la obtención de derivados que aumenten su biodisponibilidad y con esto optimizar la respuesta respecto a la dosis y la eficacia.

## 1.2. PROFÁRMACO

Un profármaco es un compuesto químico que no es tóxico y que es farmacodinámicamente inerte, pero que se puede transformar *in vivo* en una sustancia farmacológicamente activa por procesos de tipo enzimático.<sup>62</sup> Esta transformación se puede obtener mediante enzimas localizadas específicamente en el sitio de acción, enzimas disponibles sistemáticamente, enzimas proteolíticas lisosomales intracelulares endógenas o la acción secuencial de dos enzimas endógenas específicas del sitio de acción.<sup>62</sup> Esta transformación mediada por enzimas es la más efectiva con respecto a la eficacia farmacológica ya que conlleva a una activación del profármaco de manera selectiva en el sitio blanco. Si la toxicidad de un fármaco a nivel sistémico es significativa, se justifica la síntesis de moléculas tipo profármaco que puede ser activado selectivamente en el sitio blanco, y elevar el tiempo de vida media plasmática.<sup>62,63</sup>

La hidrofilia del profármaco puede ser significativamente más alta que la del fármaco, aunado a que puede existir una adecuada estabilidad del profármaco en el plasma. La transformación del profármaco se obtiene de forma óptima, el profármaco se puede activar específicamente en el sitio blanco con una alta velocidad de activación ( $V_{max}/K_m$ ). Adicionalmente, se puede ampliar el tiempo de vida media plasmática de estos compuestos por unión a copolímeros hidrófilicos de alto peso molecular.<sup>63,64</sup>

Los profármacos ofrecen numerosas ventajas potenciales, como la liberación de fármacos, disminución de efectos tóxicos, estabilidad del fármaco, mejora de la biodisponibilidad así como mejora de las propiedades organolépticas.<sup>64,65</sup>

Un ejemplo de ello son los profármacos obtenidos por Vaddi en el 2009 en donde sintetizó derivados de carbamato de norfloxacin (NTX) concluyendo que enmascararon su sabor amargo, aumentaron la eficacia terapéutica y se obtuvo un aumento de su biodisponibilidad.<sup>65</sup> (Figura 6, Cuadro 1)

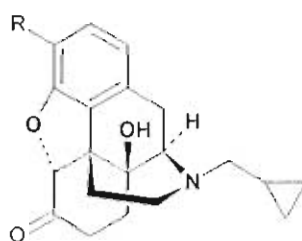


Figura 6. Derivado de *N*-monoalquil de NTX.

Cuadro 1. Derivados de *N*-monoalquil de Norfloxacin

Compuesto	R
NTX	-H
Etil derivado de NTX	-CONHCH <sub>2</sub> CH <sub>3</sub>
Propil derivado de NTX	-CONH(CH <sub>2</sub> ) <sub>2</sub> CH <sub>3</sub>
Butil derivado de NTX	-CONH(CH <sub>2</sub> ) <sub>3</sub> CH <sub>3</sub>
Pentil derivado de NTX	-CONH(CH <sub>2</sub> ) <sub>4</sub> CH <sub>3</sub>

### 1.2.1. Profármacos de anti-inflamatorios no esteroideos

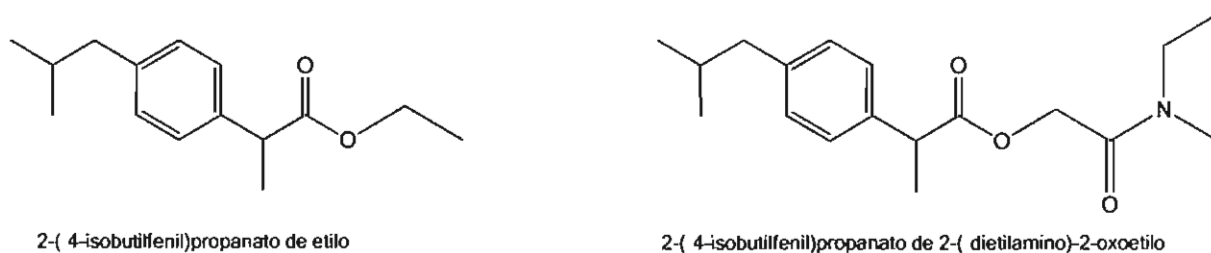
Los profármacos que contienen grupo funcional del tipo éster son muy utilizados debido a la amplia gama de enzimas esterasas que existen en el organismo las cuales pueden transformarlo de un compuesto inactivo en uno con actividad biológica.<sup>66</sup>

Estos profármacos son preparados a partir de derivados de ácidos carboxílico por reacción con un alcohol o fenol. La selección de éster como profármaco permite una mejor biodisponibilidad debido a que presentan una mayor lipofilia que el fármaco original.<sup>66</sup>

Sin embargo se ha reportado que existen limitaciones con los ésteres debido a que algunos *in vivo* son muy estables lo que puede conllevar a que no se active.<sup>20,67</sup>

Niels Mork<sup>68</sup> realizó una investigación de profármacos tipo éster de derivados del ácido propiónico, flurbiprofeno e ibuprofeno (Figura 7). Encontró que la estabilidad de la molécula *in vivo* estaba en función del alcohol utilizado para formar el éster. En sus resultados demostró que la hidrólisis enzimática estereoselectiva en plasma de

distintos ésteres de ibuprofeno y flurbiprofeno es diferente, encontrando que se hidrolizaban más rápido los estereoisómeros tipo *R*. En el Cuadro 2 se observan los resultados obtenidos de los estereoisómeros de la hidrólisis de derivados de ibuprofeno.



**Figura 7.** Profármacos de tipo éster de ibuprofeno.<sup>68</sup>

**Cuadro 2.** Tiempo de vida media ( $t_{1/2}$ ) de la velocidad de hidrólisis de estereoisómeros de derivados de ibuprofeno

Compuesto	$t_{1/2}$ (h) con DE $\pm$ 10%		
	Estereoisómero	Estereoisómero	<i>R:S</i>
2-(4-isobutilfenil)propanato de etilo	93	265	2.8
2-(4-isobutilfenil)propanato de 2-(dietilamino)-2-oxoetilo	1.0	1.4	1.4

Zhao<sup>69</sup> sintetizó con éxito un profármaco tipo éster de ibuprofeno-eugenol, Figura 8, el cual fue formulado en una microemulsión para ser administrado por vía parenteral y encontró que aumentaba su  $t_{1/2}$ , de  $2.790 \pm 0.29$  de ibuprofeno en solución a  $6.30 \pm 0.56$ ; mostrando con esto un tiempo de acción prolongado. Con los resultados que obtuvo se confirma que se lleva de manera rápida la hidrólisis en el plasma.

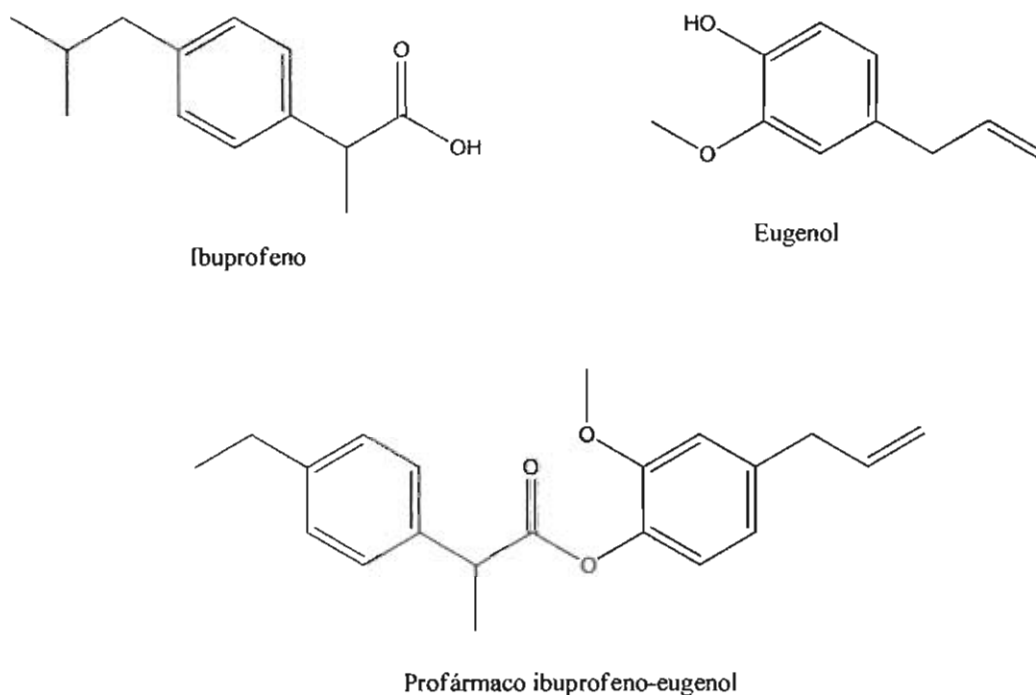


Figura 8. Profármaco Ibuprofeno-Eugenol con enlace tipo éster.<sup>69</sup>

### 1.2.2. Fármacos gemelos.

Existen fármacos que contienen dos grupos farmacofóricos iguales, unidos covalentemente, a estos compuestos se les denomina fármacos gemelos, Figura 9, los cuales son profármacos con entidades farmacofóricas, si el fármaco gemelo no se divide *in vivo*, puede existir una interacción de las entidades farmacofóricas con macromoléculas simétricas, específicamente con proteínas blanco que existen como dímeros; una interacción adicional con otro sitio de unión, la cual puede desencadenar una respuesta biológica.<sup>63</sup>

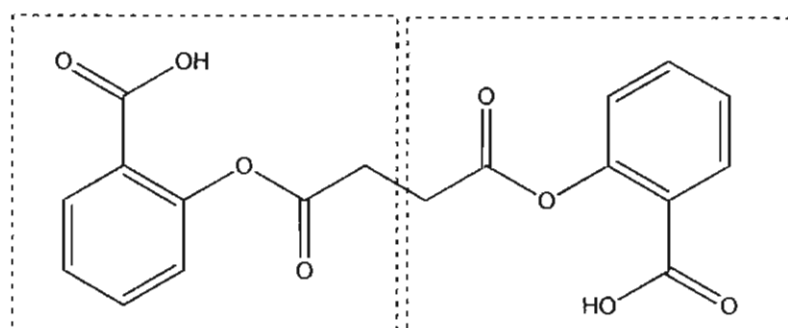


Figura 9. Fármaco gemelo, diaspirina.<sup>63</sup>

La conexión de este tipo de fármacos puede ser simétrica y asimétrica, Figura 10.<sup>63</sup>

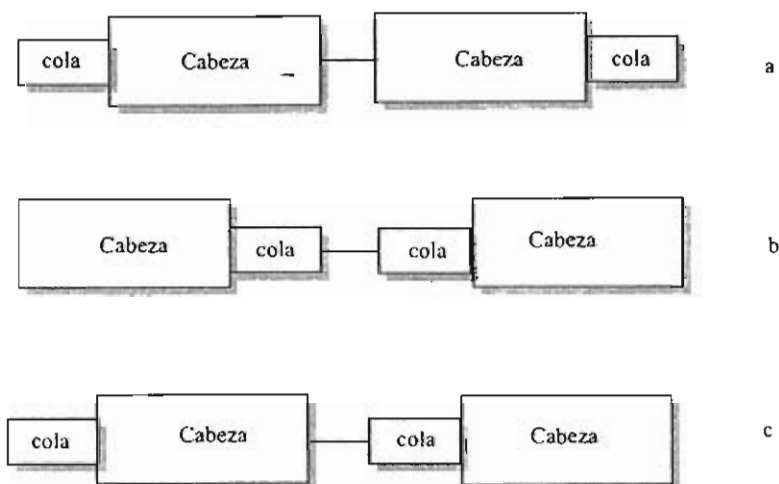


Figura 10. Modos de asociaciones de fármacos gemelos. a y b, asociación simétrica; c, asociación asimétrica.<sup>63</sup>

Los fármacos gemelos pueden incrementar la potencia y/o modificar el perfil de selectividad como ligandos de un receptor, comparado con su fármaco precursor. Las propiedades farmacocinéticas pueden ser modificadas (absorción, distribución y metabolismo).<sup>63</sup>

### 1.3. COMPUESTOS HÍBRIDOS

Los híbridos también denominados fármacos con acción dual o fármacos gemelos no idénticos, son compuestos que contienen en su molécula dos grupos farmacofóros diferentes<sup>5</sup> unidos por un enlace covalente o iónico.<sup>63</sup>

La asociación de dos fármacos puede ejercer una acción dual o una respuesta sinérgica, otra ventaja que pueden presentar es que pueden ser más activos o mostrar menores efectos secundarios comparados con los fármacos precursores<sup>63</sup>

propiedades físicas, así como propiedades bioquímicas similares. La selectividad hacia las aminas biogénicas (catecolaminas) como la histamina (H), Dopamina (D), serotonina (5-HT) y noradrelina (NA) depende de una típica interacción del aspartato (Asp), el cual está localizado en la tercer hélice transmembranal, y de las interacciones de unión.<sup>63</sup>

La importancia de sintetizar este tipo de compuestos es obtener un control de selectividad al sitio blanco que se desee llegar. En la Figura 9 se observan las moléculas precursoras para la formación de un híbrido cuyo efecto es un  $\beta$ -bloqueador y diurético, el cual se obtuvo mediante una síntesis asociativa de un derivado sulfonamídico y un derivado del indol.<sup>63</sup>

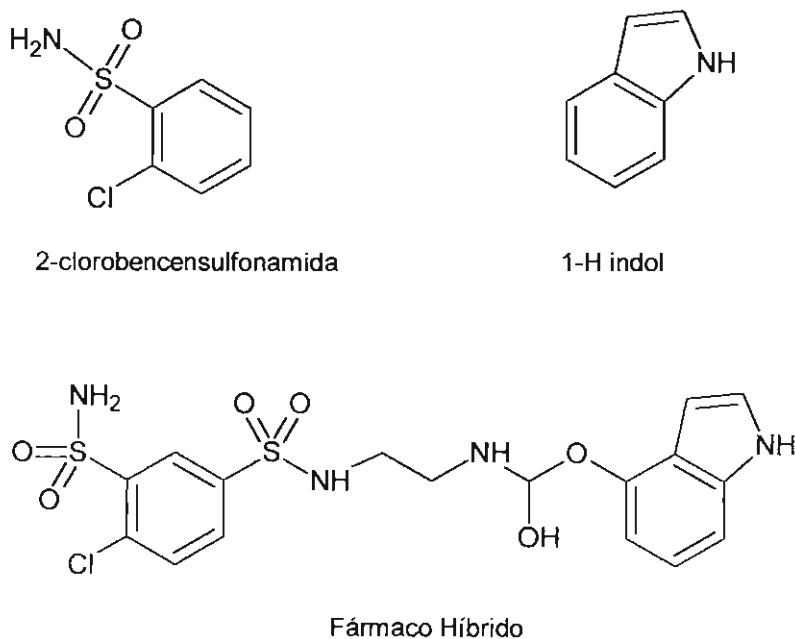


Figura 9. Híbrido con efecto  $\beta$ -bloqueador y diurético

## 2. Híbridos como inhibidores enzimáticos

Los sistemas enzimáticos pueden subdividirse en familias y cada tipo de enzimas presenta varias isoformas; la inhibición de dos diferentes isoenzimas puede llevarse a cabo con una molécula híbrida con efecto inhibitorio dual, tal es el caso de la tiazolona CI-1004 la cual puede inhibir tanto a ciclooxigenasa (COX) como 5-lipooxigenasa (5-LOX), ambas enzimas actúan en la biosíntesis de prostaglandinas y leucotrienos (Figura 10).<sup>63</sup>

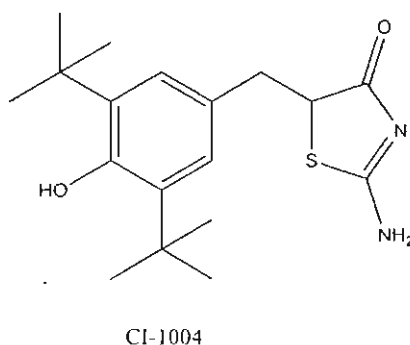


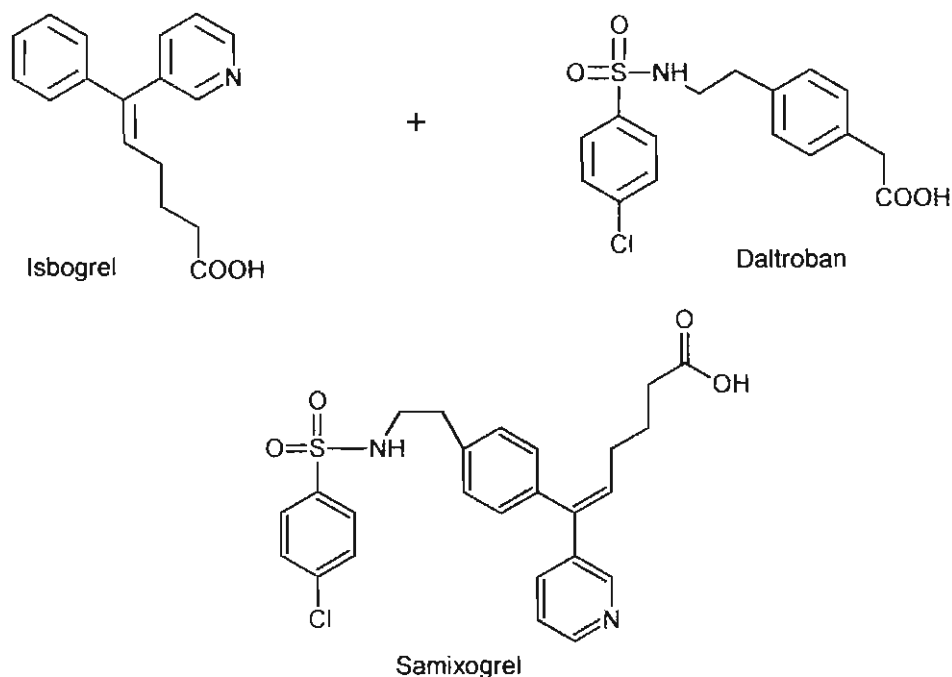
Figura 10. Híbrido con efecto inhibitorio dual, CI-1004.<sup>63</sup>

## 3. Híbridos que actúan sobre una enzima y un receptor

Existen moléculas híbridas que actúan simultáneamente sobre un receptor y una enzima, teniendo como resultado un efecto sinérgico.<sup>63</sup>

Ejemplo de ello es el samixogrel (Figura 11), el cual es un fármaco híbrido para la inhibición de la acción trombótica del tromboxano (TX<sub>2</sub>, inductor de agregación plaquetaria y participa en la contracción vascular del músculo liso); este fármaco híbrido de TX<sub>2</sub> es un antagonista del receptor de tromboxano (TxRA) e inhibidor de la enzima tromboxano sintasa (TxSI). Sus fármacos precursores son el Isbogrel el cual tiene la actividad terapéutica de inhibidor de la TxSI y el Daltobran el cual es el antagonista del receptor TxRA.<sup>63, 70</sup>

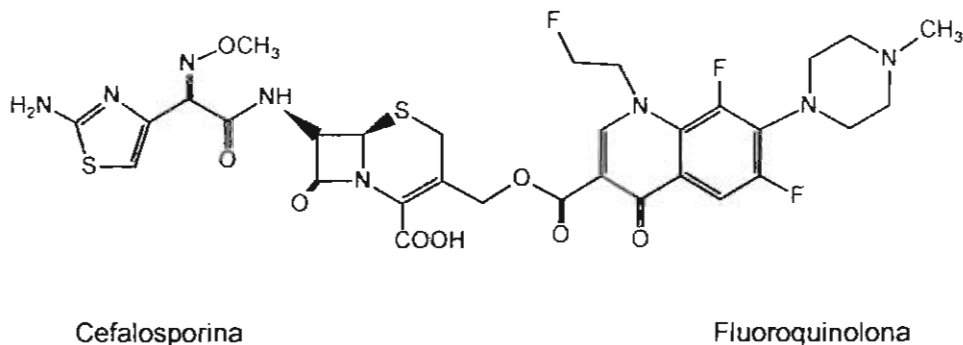




**Figura 11.** Samixogrel, híbrido de Isbogrel y Daltroban.

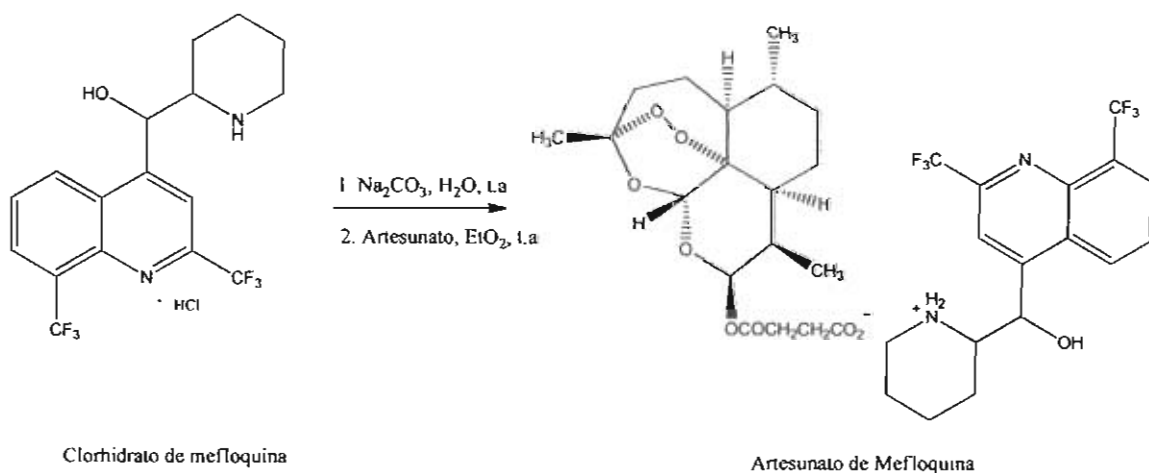
Se ha reportado que la eficacia en la administración de agentes antibacteriales híbridos, es mejor que, la administración de dos moléculas separadas en un mismo sistema de liberación.<sup>71</sup>

En estudios, *in vitro*, de agentes antibacteriales, se realizó la mezcla de dos fármacos, mezclando gatifloxacina o ciprofloxacino con rifampicina o cloranfenicol, con estas mezclas se obtuvo una respuesta menos efectiva contra *Enterococcus faecalis*, comparándola con, las fluoroquinolonas solas.<sup>71</sup> Posteriormente, se realizó una evaluación de una mezcla de fluoroquinolona con rifampicina o cloranfenicol, la cual mostró beneficios moderados.<sup>66</sup> Por último realizaron una evaluación del híbrido de cefalosporina con fluoroquinolona mostrando una excelente inhibición, Figura 12.<sup>71</sup>



**Figura 12.** Híbrido de Cefalosporina- fluoroquinolona.<sup>71</sup>

Pilla y colaboradores<sup>71</sup> sintetizaron un híbrido de mefloquina y artesunato observándose una concentración inhibitoria media ( $CI_{50}$ ) de  $1.0 \pm 0.5$  contra *Plasmodium falciparum* comparada con la  $CI_{50}$  obtenida con la mezcla de mefloquina y artesunato (1:1) la cual fue de  $2.3 \pm 0.12$  y para la mezclas con proporción de (1:2) y de (2:1) obtuvo una  $CI_{50}$  de  $2.5 \pm 0.20$  y de  $1.9 \pm 0.5$ . Lo cual demostró que la administración de híbridos supera la actividad terapéutica contra la administración de mezclas de dos fármacos (Esquema 2).



**Esquema 2.** Síntesis de híbrido mefloquina-artesunato.<sup>72</sup>

### 1.3.1. Compuestos híbridos de anti-inflamatorios no esteroideos.

Se ha reportado el efecto benéfico de híbridos de óxido nítrico (NO) con algunos AINEs tales como: aspirina, diclofenaco, naproxeno, indometacina e ibuprofeno<sup>9,11</sup> en donde se observan efectos gastroprotectores.

El NO es una molécula clave para la protección gástrica que incrementa los factores de protección, como lo son, el moco, secreción de bicarbonato, el flujo de sangre en la mucosa, la proliferación epitelial y la angiogénesis, y por otro lado, conlleva a la disminución de los factores agresivos que ocasionan el ácido, la adhesión de leucocitos al endotelio y producción de citoquinas. El NO no daña la mucosa gástrica y cicatriza lesiones ulcerosas.<sup>9,11</sup> En el sistema cardiovascular inhibe la agregación plaquetaria y adhesión.<sup>9</sup>

En la Figura 13 se observa un derivado de indometacina con NO (como donador), este híbrido mostró *in vitro* una selectividad eficaz sobre COX-2 con una  $CI_{50}$ = 1,2M, la COX-1,  $CI_{50}$  =6,0M) y la actividad anti-inflamatoria oral. Se les administró a ratas, este compuesto, exhibiendo un aumento en la concentración de nitratos en el plasma, lo que indicó la propiedad de donar NO *in vivo*. Además, mostró una reducción del 85% en las lesiones gástricas administrado por vía oral comparado con un modelo de rata de lesión gástrica inducida con aspirina) con una dosis de 45 mmol/kg.<sup>9</sup>

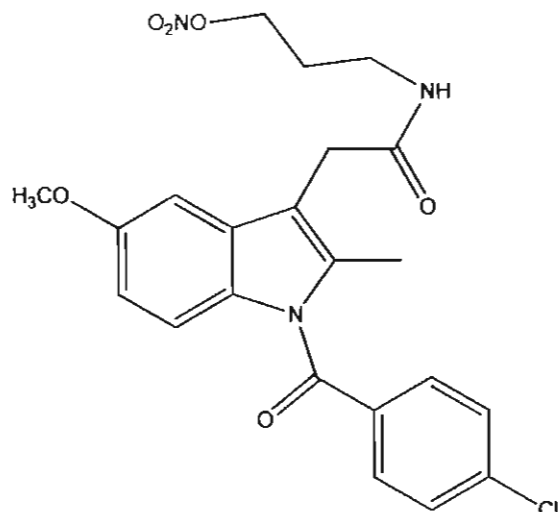


Figura 13. Híbrido óxido nítrico-indometacina.<sup>9</sup>

## 1.4. REACCIONES QUÍMICAS DE ÁCIDOS CARBOXÍLICOS Y ÉSTERES

### 1.4.1 Reducción de ácidos carboxílicos

Los ácidos carboxílicos se caracterizan por experimentar reacciones de adición nucleofílica-eliminación.<sup>73</sup> Son reducidos para dar alcoholes con agentes reductores fuertes. La reducción procede por una disminución del estado de oxidación y una ganancia de electrones, otra forma de expresarlo es como una ganancia de hidrógenos de la molécula, esto se puede por la transferencia de un ion hidruro el cual puede provenir de un reactivo tal como el  $\text{LiAlH}_4$ , este es un agente donador de hidruro fuerte, reduce de manera rápida ésteres, nitrilos, amidas y ácidos.<sup>73</sup>

La reducción del ácido carboxílico con este agente reductor no se detiene en el aldehído, este tipo de reacciones se lleva a cabo utilizando disolventes anhidros apróticos como el tetrahidrofurano (THF) o éter, debido a que el  $\text{LiAlH}_4$  reacciona muy violento con el agua o disolventes próticos. A pesar de este inconveniente es el agente reductor por elección.<sup>74,75</sup>

Una alternativa al uso de  $\text{LiAlH}_4$  es, borano en tetrahidrofurano ( $\text{BH}_3/\text{THF}$ ), la reacción es rápida, es más segura y específica. Los boranos reaccionan rápidamente con ácidos carboxílicos en presencia de otros grupos funcionales, puede llevarse a cabo una reacción selectiva en presencia de grupos nitro, sin que este se vea afectado.<sup>75</sup>

#### 1.4.2. Reducción de ésteres

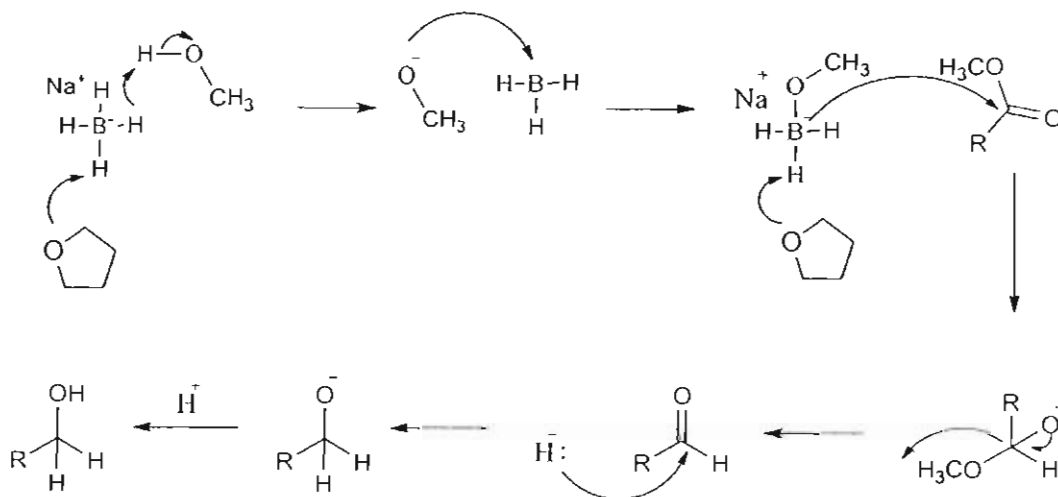
Los ésteres son reducidos fácilmente por tratamiento con  $\text{LiAlH}_4$  para dar dos moles de alcohol, pero debido a las condiciones de reacción que se requiere para trabajar con este compuesto (por su alta reactividad con otros grupos funcionales y con el agua), se han buscado reactivos alternativos y más selectivos algunos ejemplos son: hidruro de diisobutilaluminio (DIBALH), el complejo de borano con sulfuro de dimetilo ( $\text{BH}_3\text{-SMe}_2$ ) en THF, otro agente reductor es el borohidruro de sodio ( $\text{NaBH}_4$ ), el uso de este último se limitaba para reducir aldehídos, cetonas y cloruros de ácido. Dado que el  $\text{NaBH}_4$  bajo ciertas condiciones reduce de manera muy lenta a los ésteres, es posible reducir aldehídos y cetonas en presencia de ésteres en la misma molécula. Este reactivo puede reducir ésteres fenólicos especialmente en presencia de grupos electroatrayentes en el anillo aromático.<sup>75,76</sup>

Cuando un éster reacciona con un ión hidruro la primera reacción es una sustitución acil-nucleofílica, el grupo alcoxi es sustituido por el ión hidruro. El producto de esta reacción es un aldehído, el cual reacciona con el ión hidruro formando alcóxido, que se protona al alcohol primario.<sup>76</sup>

Boech<sup>77</sup> reportó que NaBH<sub>4</sub> puede ser un reductor tan fuerte como el LiAlH<sub>4</sub> en un sistema Tetrahidrofurano-Metanol (THF-MeOH) obteniendo el alcohol en rendimientos altos.

Con el sistema NaBH<sub>4</sub>-MeOH, es posible reducir, ésteres, halogenuros, amidas, lactonas y lactámicos. En algunas reacciones se generan *in situ* boranos del NaBH<sub>4</sub>. El NaBH<sub>4</sub> es versátil como un agente hidruro reductor, puede ser un reductor quimioselectivo dependiendo del medio de reacción utilizado.<sup>78,79</sup>

Cuando se hace reaccionar NaBH<sub>4</sub> con MeOH en THF se obtiene un agente reductor más fuerte debido a que al unirse el boro con el oxígeno, este último tiene un efecto un electrodonador aumentando la generación de iones hidruros (H<sup>-</sup>) (Ecuación 1, Esquema 3), si los 4 hidruros reaccionarán la reducción sería nula. (Ecuación 2).<sup>79</sup>



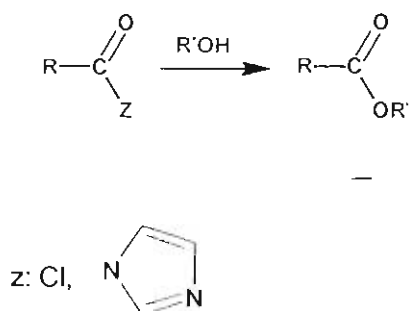
Esquema 3. Mecanismo de reacción para la Reducción de ésteres con NaBH<sub>4</sub>-MeOH en THF.

Si se utiliza solo THF, los tiempos de reacción son prolongados y se requieren condiciones más drásticas; la adición de una cantidad calculada de MeOH a la mezcla de reacción, mejora la reactividad del sistema NaBH<sub>4</sub>-THF.<sup>77,78</sup>

### 1.4.3. Esterificación

Los ácidos carboxílicos pueden convertirse fácilmente en ésteres por una reacción de sustitución nucleofílica con previa transformación al carboxilato seguido de la adición de un halogenuro de alquilo, o un agente alquilante como el sulfato de dimetilo.<sup>75</sup>

Los métodos generales para la preparación de ésteres, son por reacción de un alcohol con un cloruro de ácido (Esquema 4) o por la activación de un derivado del ácido carboxílico utilizando reactivos que forman derivados más electrofílicos como por ejemplo el imidazólido.<sup>74</sup>

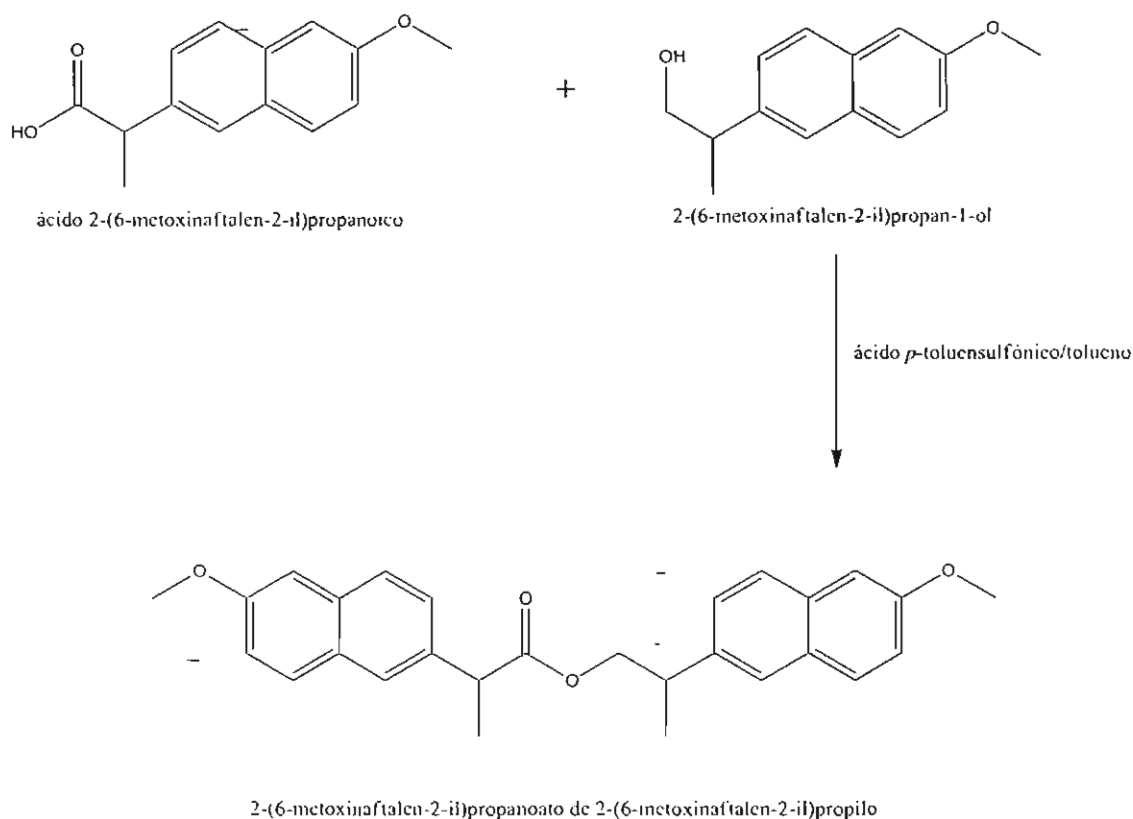


Esquema 4. Método general para la obtención de ésteres.

#### 1.4.3.1. Esterificación utilizando un catalizador ácido.

La síntesis de ésteres se lleva a cabo por condensación de un ácido carboxílico y un alcohol en presencia de un catalizador ácido mineral o el ácido *p*-toluensulfónico.<sup>75</sup>

González de la Parra y colaboradores (1998) sintetizaron el naproxeno de naproxol (Esquema 5) por condensación del naproxeno con naproxol, utilizando ácido *p*-toluensulfónico como catalizador.<sup>80</sup>



Esquema 5. Esterificación con catalizador *p*-toluenosulfónico.<sup>80</sup>

#### 1.4.3.2. Esterificación con alcoholes

Los ésteres se pueden obtener por reacciones específicas como son las condiciones de esterificación de Fischer, por reacción de un ácido carboxílico con un alcohol, calentando una solución del ácido carboxílico en alcohol, en presencia de una cantidad catalítica de un ácido fuerte como el HCl o el H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>; la adición de un ácido mineral sirve para aumentar la electrofilia del carbono del carbonilo del ácido carboxílico para que este pueda ser atacado por el -OH del alcohol.<sup>73,75</sup>



#### 1.4.3.3. Esterificación con halogenuros de ácido

El ácido carboxílico puede ser activado con  $\text{SOCl}_2$ , obteniendo una molécula más reactiva (halogenuro de ácido), la electrofilia del carbono del carbonilo es aumentada, porque el cloro un mejor grupo saliente que el  $-\text{OH}$  del ácido carboxílico, el cual será fácilmente desplazado por un nucleófilo más fuerte.<sup>75</sup>

La reacción entre halogenuros de ácido con alcoholes o fenoles, es uno de los mejores métodos para obtener ésteres, debido a la reactividad de los halogenuros de ácido, se realiza en presencia de una base, una solución alcalina Reacción de Schotten-Baumann<sup>81</sup> o en presencia de bases débiles como lo es la piridina y la trietilamina.<sup>73</sup>

#### 1.4.3.4. Esterificación con reactivos de acoplamiento

Los reactivos de acoplamiento son compuestos que se utilizan para activar el grupo carbonilo del ácido carboxílico, reemplazando el grupo  $\text{OH}$  por un sustituyente  $Z-$ , que es un grupo electroatrayente, que aumenta la polarización del grupo carbonilo y la electrofilia del átomo de carbono, de tal forma que aumenta la reactividad del carbono electrófilo y la reactividad del intermediario formado puede ser comparada como la de un halogenuro de ácido. Este tipo de activaciones son usadas para la formación de nuevos enlaces peptídicos en donde se activa el grupo carboxílico de un aminoácido, para convertirlo en un buen grupo acilante y facilitando con esto el ataque nucleofílico del grupo amino del aminoácido.<sup>66</sup>

Para la activación del grupo carboxilo de un aminoácido, los reactivos más utilizados son las carbodiimidas, en las que el átomo de carbono central puede sufrir el ataque nucleófilo del aminoácido que tiene protegido el grupo amino para dar un intermediario de O-acilisourea, para transformarlo en un carboxilo activado, que puede reaccionar con el grupo amino de otro aminoácido.<sup>66</sup> En la Figura 14 se presentan algunos ejemplos de carbodiimidas, como la dicitclohexilcarbodiimida (DCC) y la diisopropilcarbodiimida (DIC), éstas son comúnmente usadas para preparar amidas, ésteres y anhídridos de ácido.<sup>82</sup>

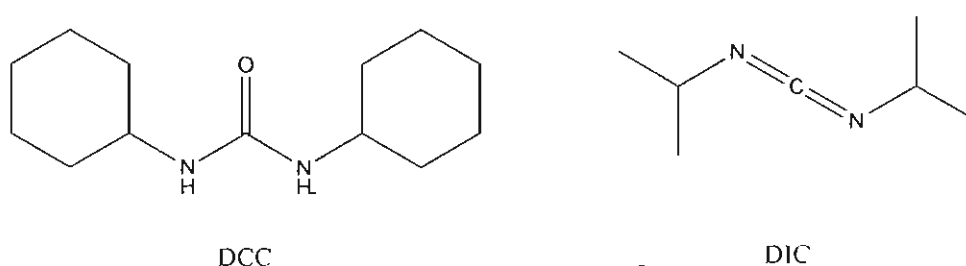


Figura 14. Ejemplos de carbodiimidas.

Existen reactivos de acoplamiento derivados del fósforo, el más representativo es el hexafluorofosfato de benzotriazolil-*N*-oxi-tris-(dietilamonio)fosfonio (BOP), Figura 15.<sup>82</sup>

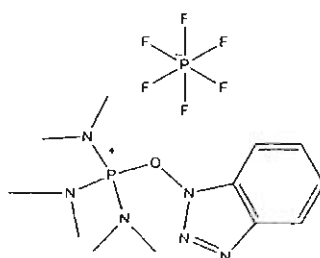


Figura 15. Estructura química de BOP

El *N,N'*-carbonildiimidazol (CDI) es uno de los reactivos de acoplamiento más comúnmente utilizado para activar ácidos carboxílicos y formar ésteres y

amidas.<sup>66,75,83</sup> Este tipo de reactivos son fácilmente dissociables. El acoplamiento entre ácidos carboxílicos y alcoholes se logra primero por reacción del ácido con el CDI obteniéndose un acil-imidazólido, el cual es más reactivo que un éster y menos reactivo que un haluro de acilo.<sup>75</sup> Dos factores son los responsables para la alta reactividad de este derivado; el primero es el enlace débil que se forma en la formación de la "amida" (Esquema 6), debido a la deslocalización de los electrones del C=O hacia el anillo aromático del imidazol, y el segundo a la protonación del nitrógeno básico del imidazol lo que provoca que el anillo del imidazol (que forma la amida) sea un mejor grupo saliente.<sup>74</sup>

Woodman<sup>83</sup> utilizó CDI para la obtención de amidas a partir de aminas aromáticas con diferentes sustituyentes desactivadores y activadores del anillo, obteniendo rendimientos mayores a 90%.

Algunos autores han reportado el uso de 2,3,4,6,7,8,9,10-octahidropirimido[1,2-a]azepina (DBU), Figura 16, para catalizar reacciones nucleofílicas con carbonato de dimetilo para la formación de ésteres y con CDI para la formación de amidas.<sup>84,85,86</sup>

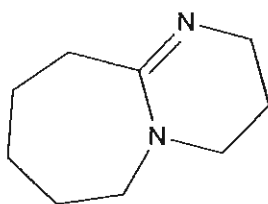
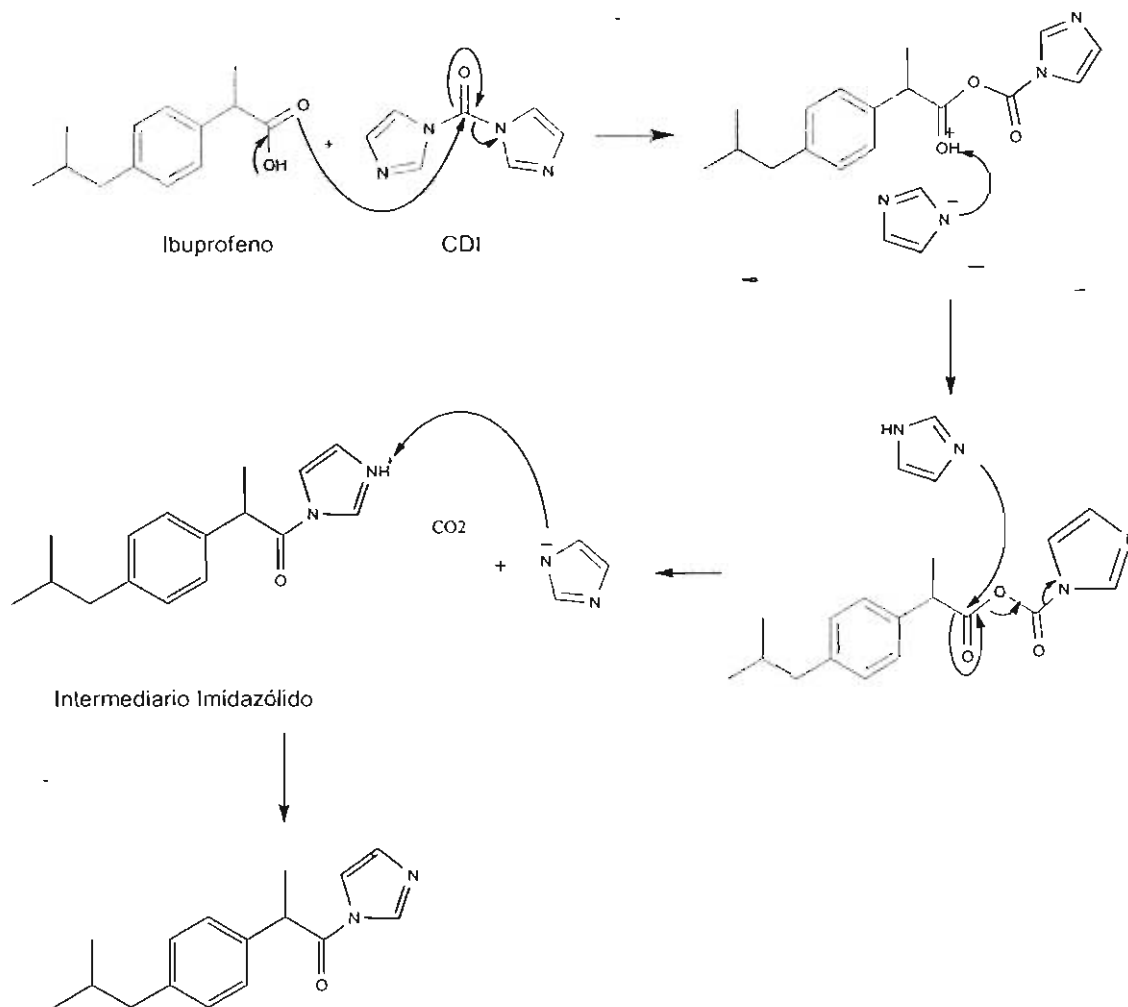


Figura 16. Estructura del DBU.



Esquema 6. Mecanismo de reacción de la activación del carbonilo del ácido carboxílico del ibuprofeno, con CDI.

### 1.5. EVALUACIÓN DE AGENTES ANTI-INFLAMATORIOS

Existen muchos métodos experimentales para la evaluación del efecto de la actividad anti-inflamatoria; uno de los bioensayos que evalúa el efecto inhibitorio de sustancias activas es el edema producido por una inyección de un agente flogístico (irritante) en la pata de la rata<sup>87</sup> o ratón.<sup>88</sup>

Algunos agentes irritantes que se emplean con frecuencia son; levadura de cerveza, formaldehído, dextrán, albúmina de huevo, caolín, polisacáridos sulfatados tal como la carragenina o derivados de heparina.<sup>87</sup>

El efecto puede ser cuantificado, al determinar el edema medido como el cambio del volumen de la pata inyectada antes y después de la aplicación del agente irritante. El volumen de la pata de los animales tratados es comparado con el de los controles (no tratados) en diferentes tiempos. Estas variaciones de volumen son medidas manualmente con un pletismómetro, el cual es un dispositivo empleado para medir con precisión pequeñas variaciones de volumen expresado en mililitros (mL).<sup>87</sup>

La carragenina lambda ( $\lambda$ ) es considerada como un excelente agente inductor de inflamación aguda, ya que induce una respuesta caracterizada por migración de leucocitos, así como la síntesis de mediadores involucrados en el proceso inflamatorio.<sup>87</sup>

## 2. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

Con el propósito de mejorar el perfil de actividad anti-inflamatoria y enmascarar el ácido carboxílico que contiene en su molécula el ibuprofeno, en este estudio se propone la síntesis de: un profármaco de ibuprofeno (ibuprofeno-ibuprofeno), **3**, y de un híbrido de curcumina-ibuprofeno, **4**, este último con el propósito de tener un efecto sinérgico como resultado de la acción dual de dos compuestos con mecanismos de acción diferente.

### 3. HIPÓTESIS

El profármaco de ibuprofeno (ibuprofeno-ibuprofeno), y el compuesto híbrido de ibuprofeno-curcumina presentarán mejor eficacia en la actividad anti-inflamatoria en dosis iguales o menores comparadas con el fármaco precursor.

### 4. OBJETIVOS

#### 4.1. GENERAL

Sintetizar y evaluar la actividad anti-inflamatoria de derivados ibuprofeno

#### 4.2. PARTICULARES:

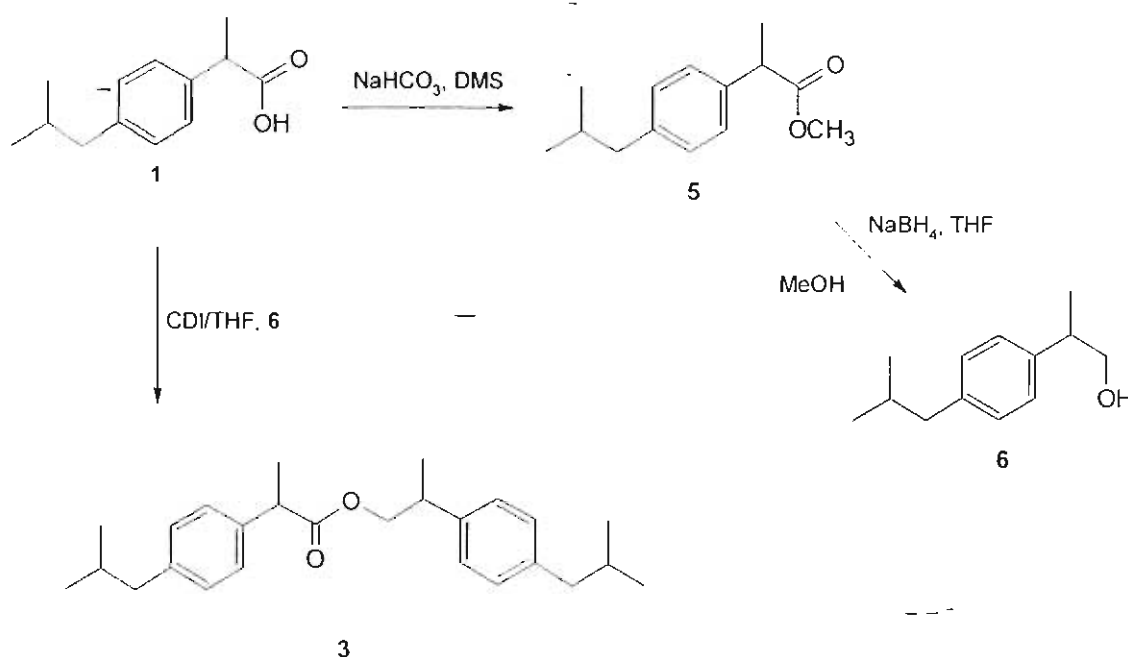
- Sintetizar y caracterizar al 2-(4-isobutilfenil)propanoato de 2-(4-isobutilfenil)propilo, **3**.
- Sintetizar y caracterizar al (1*E*,4*Z*,6*E*)-5-hidroxi-1,7-bis(4-hidroxi-3-metoxifenil)hepta-1,4,6-trien-3-ona, **2**.
- Sintetizar y caracterizar al 2-(4-isobutilfenil)propanoato de 4-[(1*E*,4*Z*,6*E*)-5-hidroxi-7-(3-[[2-(4-isobutilfenil)propanoil]oxi]-4-metoxifenil)-3-oxohepta-1,4,6-trienil]-2-metoxifenilo, **4**.
- Realizar la curva dosis respuesta para el efecto anti-inflamatorio del profármaco e híbrido de ibuprofeno en el modelo de inflamación de la pata en ratón.
- Calcular el LogP y el pKa de **3** y **4**.

## 5. METODOLOGÍA

### 5.1. SÍNTESIS QUÍMICA

#### 5.1.1. Síntesis del profármaco, 2-(4-isobutilfenil)propanoato de 2-(4-isobutilfenil)propilo, 3.

El compuesto 3 se preparará por activación del ibuprofeno, 1, con carbonildiimidazol (CDI)<sup>66,83</sup> y reacción subsecuente con 6 (Esquema 7). A su vez éste último se preparará por metilación del ibuprofeno con sulfato de dimetilo (DMS)<sup>89</sup> bajo condiciones básicas, compuesto 5, y posterior reducción del éster metílico con  $\text{NaBH}_4$  en MeOH-THF, siguiendo condiciones de Boechat.<sup>77</sup>

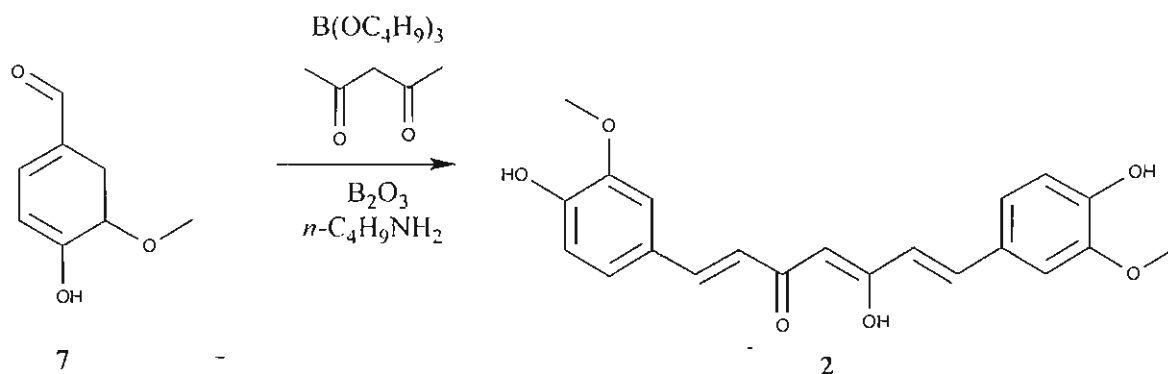


Esquema 7. Ruta de síntesis de ibuprofenato de ibuprofenilo 3



### 5.1.2. Síntesis de curcumina, (1E,4Z,6E)-5-hidroxi-1,7-bis(4-hidroxi-3-metoxifenil)hepta-1,4,6-trien-3-ona, 2.

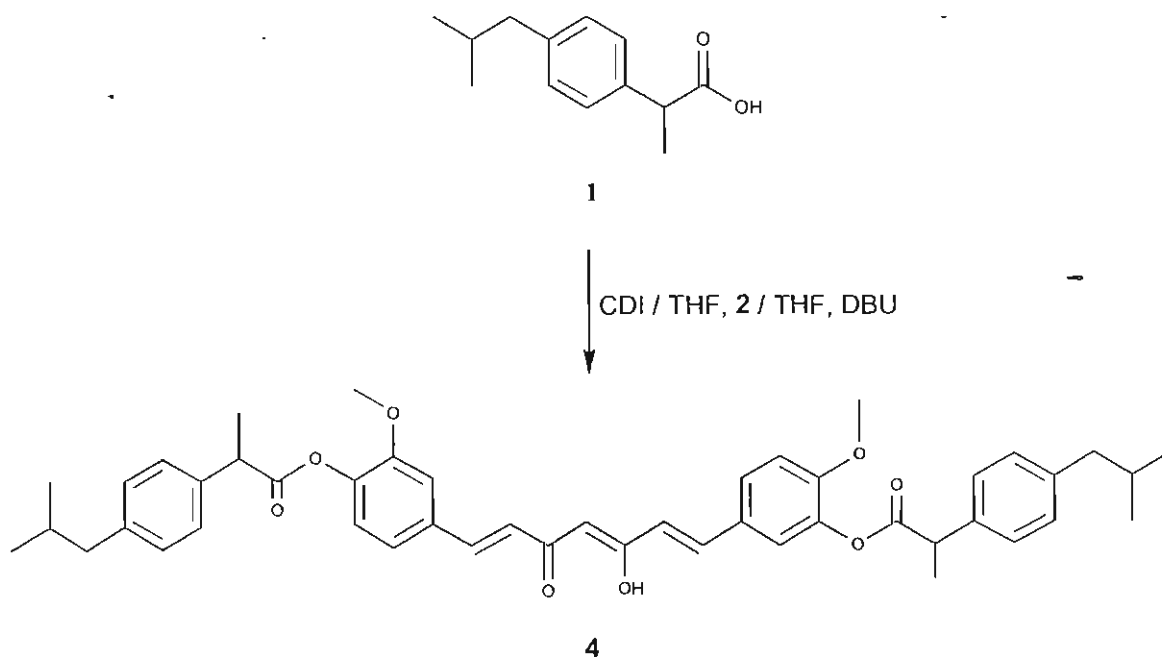
El compuesto 2 se sintetizará mediante una condensación aldólica de vainillina, 7, con acetilacetona siguiendo la metodología de Pabon<sup>43,90</sup> con tributilborato  $B(OC_4H_9)_3$  y *n*-butilamina (Esquema 8).



Esquema 8. Ruta de Síntesis de 2

### 5.1.3. Síntesis del híbrido ibuprofeno-curcumina, 4-[(1E,4Z,6E)-5-hidroxi-7-(3-[[2-(4-isobutilfenil)propanoil]oxi]-4-metoxifenil)-3-oxohepta-1,4,6-trienil]-2-metoxifenilo, 4.

El compuesto 4, se preparará a partir de 1 activado con CDI<sup>66,83</sup>, para formar el intermediario imidazólido, seguido del acoplamiento con 2 en presencia de DBU<sup>85</sup> como se muestra en el Esquema 9.



**Esquema 9. Ruta de síntesis de 4**

## 5.2. EVALUACIÓN DEL EFECTO ANTI-INFLAMATORIO DE LOS DERIVADOS DE IBUPROFENO

Se utilizarán 108 ratones macho cepa CD1 de 22-25 g de peso divididos en cinco grupos, Cuadro 3.

Los ratones serán proporcionados por el bioterio de la Universidad Autónoma Metropolitana Unidad Xochimilco (UPEAL). Se mantendrán con temperatura ambiente de  $22 \pm 2$  °C y ciclo luz-oscuridad 12-12 h, con alimento libre antes de dejarlos en ayuno, el cual será de 18 h antes de los estudios con hidratación libre.

Se realizará la metodología de Winter<sup>91</sup> con modificación de Sugishita.<sup>88</sup>

### Cuadro 3. Esquemas de tratamiento

Grupo	No de ratones	Activo
1	18	Placebo
2	18	Ibuprofeno 1
3	18	Profármaco (ibuprofenato de ibuprofenilo) 3
4	30	Curcumina 2
5	24	Híbrido (Ibuprofeno-curcumina) 4

### CÁLCULO DE LogP y pKa

Se calculará el LogP mediante el programa Chem Bio Draw Ultra versión 12.0.2, y mediante el programa Chemical Calculations with Calculator Plugins versión 5.7.0 se calculará el valor del pKa.

## 6. DESARROLLO EXPERIMENTAL

### 6.1. SÍNTESIS QUÍMICA

El análisis de UV-Visible (UV-Vis) se realizó con el espectrofotómetro marca PERKIN-ELMER modelo LAMBDA 2 UV/VIS.

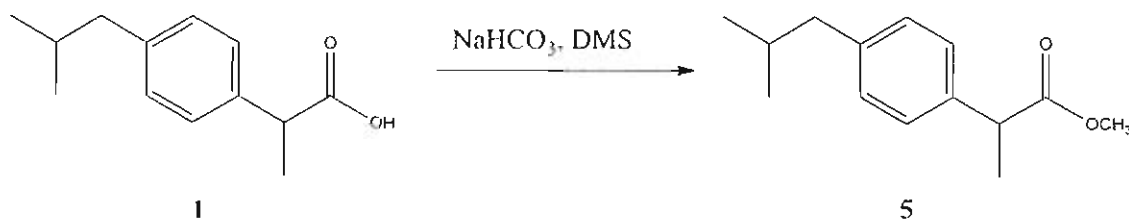
Los espectros de Infrarrojo (IR) se obtuvieron con el espectrofotómetro marca PERKIN ELMER de transformada de Fourier modelo SPECTRUM RX I FT-IR.

Los espectros de resonancia magnética nuclear de  $^1\text{H}$  y  $^{13}\text{C}$  se obtuvieron con el espectrómetro VARIAN modelo MERCURY de 400 MHz, usando tetrametilsilano como referencia interna. Los símbolos correspondientes a la multiplicidad de las señales son: s, señal simple; d, señal doble; dd, señal doble de doble; t, señal triple; c, señal cuádruple; sxt, señal sextuple, n, señal de nueve picos (nonuple); m, señal múltiple.

El análisis de espectrometría de masas se realizó en el espectrómetro de masas marca JEOL modelo JMS-SX102A con la técnica de impacto electrónico (IE).

#### 6.1.1. Síntesis de 2-(4-isobutilfenil)propanoato de 2-(4-isobutilfenil)propilo, 3

##### 6.1.1.1. Síntesis de 2-(4-isobutilfenil)propanoato de metilo, 5

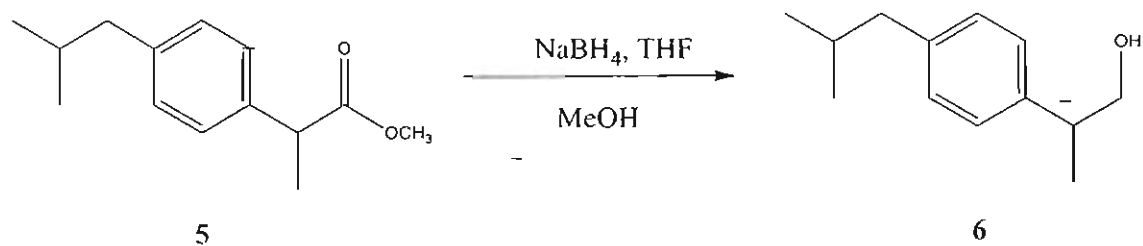


Esquema 10. Esterificación de ibuprofeno, 1.

En un matraz de tres bocas con columna vigreux, se colocaron 20 g, (0.096 mol) de ibuprofeno 1, suspendidos en acetona (45 mL) a 45°C, posteriormente, a través de un embudo de adición, se le adicionaron 16.7 g, (0.15 mol) de NaHCO<sub>3</sub>, seguido de la adición gota a gota de agua (12.5 mL). La mezcla se dejó en agitación hasta que alcanzó un pH de 7; posteriormente se adicionaron gota a gota 15.7 g, (0.12 mol) de DMS; se mantuvo bajo estas condiciones por 12 h, Esquema 10. El avance de la reacción fue seguido por cromatografía en capa fina analítica (CCF), utilizando como sistema de elución Hexano-Acetato de etilo (Hex-AcOEt), 9:1

Agitada la materia prima, se eliminó el disolvente de la mezcla de reacción por destilación a presión reducida. El residuo se lavó con agua (2 x 20mL) y luego se extrajo con AcOEt (3 x 20mL). La fase orgánica se trató con Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> anhidro, se filtró y evaporó a presión reducida para dar un líquido ligeramente amarillo y viscoso, traslúcido, con un rendimiento crudo de 21.47 g. El producto fue purificado por percolación a través de sílice. Se obtuvo un líquido incoloro ligeramente viscoso, con un rendimiento de 92% (19.61 g, 0.089 mol) R<sub>F</sub> = 0.79; Hex-AcOEt, 9:1. UV-Vis longitud de onda  $\lambda_{\max}$  272.4nm en AcOEt y en UV-VIS por segunda derivada, una  $\lambda_{\min}$  de 272.6 nm. IR: película, se observó una banda en 1739.87 cm<sup>-1</sup> característica de estiramiento entre C=O de éster (Espectro 1). <sup>1</sup>H RMN (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$ : 0.895 (d, J=6.8 Hz, 6H), 1.843 (n, J=6.8 Hz, 1H), 2.443 (d, J=7.2 Hz, 2H), 3.695 (c, J=7.2 Hz, 1H), 1.484 (d, J=7.2 Hz, 3H), 3.654 (s, 3H, OCH<sub>3</sub>), 7.091 (d, J=8 Hz, 2H), 7.193 (d, J=8.4 Hz, 2H), Espectro 2.

### 6.1.1.2. Síntesis de 2-(4-isobutilfenil)propan-1-ol, **6**



Esquema 11. Reducción de **5**

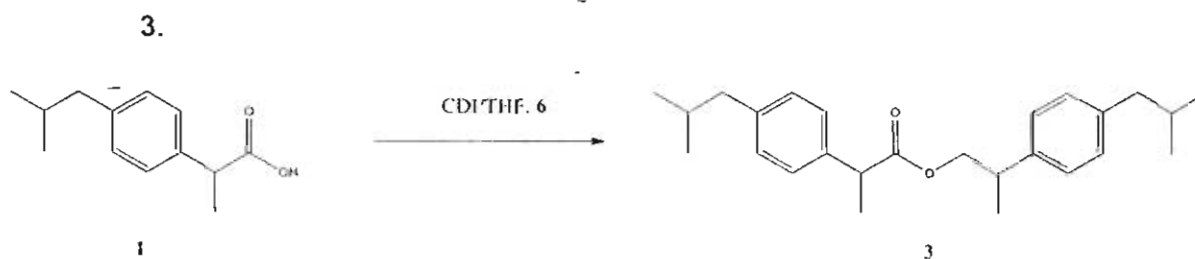
El éster metílico **5** (3 g, 0.013 mol) fue depositado en un matraz de tres bocas que contenía NaBH<sub>4</sub> (6 eq, 3.09 g, 0.081 mol) suspendido en 60 mL de tetrahidrofurano (THF) la mezcla fue agitada a 65 °C por 1h, posteriormente se disminuyó la temperatura a 55 °C y se le adicionaron 24 mL de metanol (MeOH) gota a gota, terminada la adición se aumentó la temperatura a 65°C y así se mantuvo por 19h. La reacción fue seguida por CCF en Hex-AcOEt, 9:1. Transcurrido el tiempo de reacción se redujo la temperatura a 24°C para añadir a la mezcla una solución saturada de NH<sub>4</sub>Cl (45 mL) dejándose con agitación vigorosa por 3 horas, Esquema 11.

La mezcla de reacción fue lavada y se extrajo el ibuprofenol, **6**, con AcOEt, la fase orgánica se trató con Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> anhidro, se filtró y evaporó a presión reducida, obteniéndose un líquido, amarillo, traslúcido con R<sub>F</sub> = 0.23; utilizando sistema de elución (Hex-AcOEt, 9:1).

Se pesaron 1.339 g del producto de extracción, y se disolvieron en 0.5 mL de mezcla de eluyente Hexano-Acetato de etilo-Ácido acético (Hex:AcOEt:AcOH) (8:2:0.1), se utilizó una columna de separación (30 mm de diámetro) con 30 g de sílica (0.04-

0.063 mm) y 120 mL de hexano, se colectaron fracciones de 1mL. Rendimiento 82.4 % (mol) con  $R_F = 0.23$  en Hex-AcOEt-AcOH (8:2:0.1). UV-Vis longitud de onda  $\lambda_{max}$  271.5 nm en AcOEt y en UV-VIS por segunda derivada, una  $\lambda_{min}$  de 271.8nm. IR: película,  $\nu_{max}$  3342.07  $cm^{-1}$  (O-H), 3090.26, 3050.77, 3014.36  $cm^{-1}$  (C-H, aromático), 2956.27, 2925.23, 2870.32  $cm^{-1}$  (C-H, alifático), 1513  $cm^{-1}$  (C=C), 1464.47, 1420  $cm^{-1}$  (O-H), 1167.94, 1113.61, 1070.18, 1038.69, 1013.15, 976.35, 843.36  $cm^{-1}$  (aromático sustitución *para*), Espectro 3.  $^1H$  RMN (400 MHz,  $CDCl_3$ )  $\delta$ : 0.902 (d,  $J=6.4$  Hz, 6H), 1.847 (n,  $J=6.8, 6.4$  Hz, 1H), 2.447 (d,  $J=7.2$  Hz, 2H), 2.917 (sxt,  $J=6.8$  Hz, 1H), 3.677 (d,  $J=6.8$  Hz, 2H), 1.441 (s, 1H, -OH), 7.10 (d,  $J=8$  Hz, 2H), 7.139 (d,  $J=8.4$  Hz, 2H), Espectro 4.

### 6.1.1.3. Síntesis de 2-(4-isobutilfenil)propanoato de 2-(4-isobutilfenil)propilo,



Esquema 12. Esterificación de 1 con CDI

1 (200 mg, 0.97 mmol) y CDI (2.5 eq, 400mg, 2.46 mmol) fueron suspendidos en 6 mL de THF anhidro en un matraz de tres bocas, la mezcla fue agitada a 40°C por 3.5h con atm de  $N_2$ . Formado el intermediario, se le adicionó 6 (186.4 mg, 0.97 mmol) a la mezcla de reacción, manteniendo las mismas condiciones por 24 h. El término de la reacción fue seguido por CCF, (Hex-AcOEt, 8:2:gota de ácido acético), Esquema 12. El producto de la mezcla fue lavado con solución saturada de  $NaHCO_3$ , posteriormente fue extraído con AcOEt, lavado con agua, tratado con

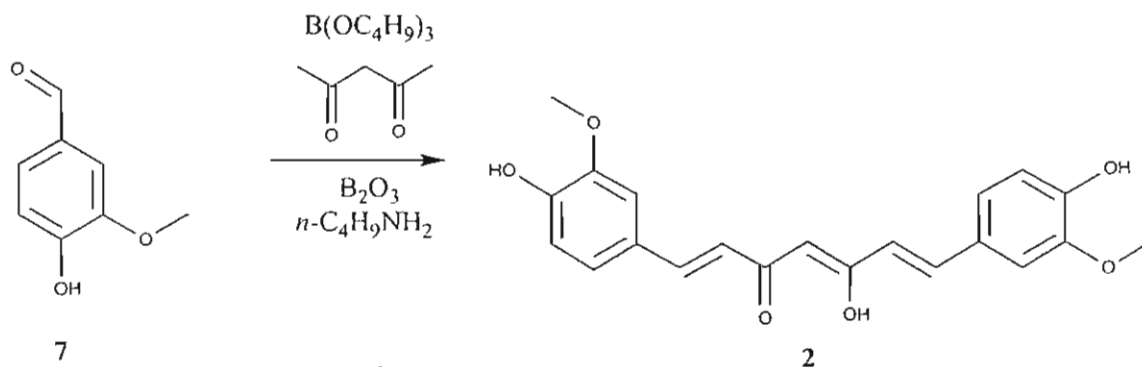
Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, filtrado y evaporado a presión reducida, obteniéndose un líquido amarillo ámbar, viscoso, con un rendimiento de crudo de 94.48%. Se pesaron 479 mg del crudo y se purificaron por cromatografía de gravedad, disolviéndolo en 0.5 mL de mezcla de eluyente Hexano-Acetona (Hex-Acetona, 9.5:0.5), se utilizó una columna de separación (30 mm de diámetro) con 48 g de sílice (70230 malla) y 120 mL de hexano, se recolectaron fracciones de 3 mL. Se obtuvo **3** con un rendimiento del 80% (400mg, 1.01mmol) R<sub>F</sub> = 0.78 Hexano-acetato de etilo (Hex-AcoEt, 8:2). UV-Vis longitud de onda  $\lambda_{max}$  272.2 nm en AcOEt y en UV-VIS por segunda derivada, una  $\lambda_{min}$  de 272.4nm. IR: película,  $\nu_{max}$  3090.61, 3051.61, 3014.61 cm<sup>-1</sup> (C-H sp<sub>2</sub>), 2956.20, 2923.07, 2870.69 cm<sup>-1</sup> (C-H sp<sub>3</sub>), 1737.58 cm<sup>-1</sup> (C=O), 1164.95 (C-O), Espectro 5. <sup>1</sup>H RMN (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$ : 8.91 (d, *J* = 6.4 Hz, 12H), 1.84 (2n traslapados, 2H), 2.43 (2dd, traslapados, *J* = Hz, 4H), 3.644 (2 c, traslapados, *J* = 7.2 Hz, 1H), 4.123 (m, 2H), 2.993 (2 sxt traslapados, *J* = 7.2Hz, 1H), 1.434 (2d traslapados, *J* = 7.2Hz, 3H), 1.17 (2d traslapados, *J* = 7.2 Hz, 3H), 7.06 ( dd, traslapados *J* = 8, 2 Hz, 2H), 7.142 (dd, *J* = 8.4, 2Hz, 2H), 7.04(s, 2H), 7.023(s, 2H), Espectro 6. <sup>13</sup>C RMN (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$ : 18, 18.5, 22, 31.85, 38, 45, 46, 70, 126.5, 127.5, 129.5, 129.6, 140, 177.27.



6.1.2. Síntesis de 2-(4-isobutilfenil propanoato de 4-[(1E,4Z,6E)-5-hidroxi-7-(3-  
[[2-(4-isobutilfenil)propanoil]oxi]-4-metoxifenil)-3-oxohepta-1,4,6-trienil]-2-

metoxifenilo, 4 con CDI

6.1.2.1. Síntesis de (1E,4Z,6E)-5-hidroxi-1,7-bis(4-hidroxi-3-metoxifenil)hepta-  
1,4,6-trien-3-ona, curcumina, 2.



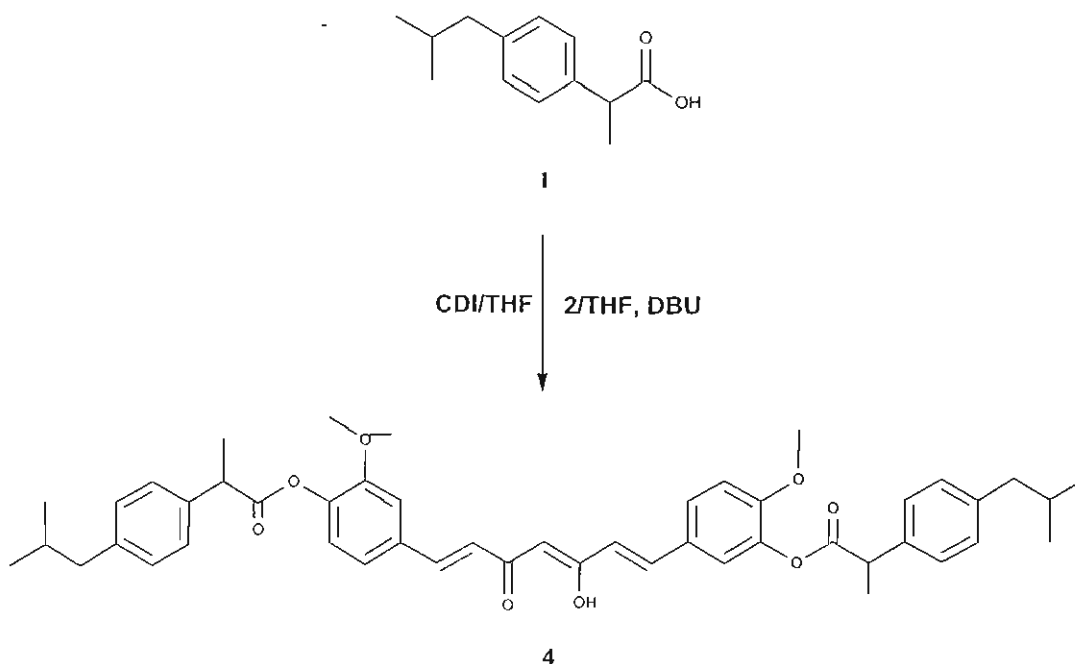
Esquema 13. Condensación aldólica de 7 para la obtención de curcumina, 2.

Se pusieron en un matraz de 2 bocas 3.04g (0.02 mol) de vainillina con 11 mL de borato de tributilo (0.04mol) en 10 mL de AcOEt seco. A la mezcla de reacción se le adicionó (0.01mol, 1g) de acetilacetona y (0.007mol, 0.5 g) de anhídrido bórico. La mezcla resultante se dejó en agitación por 20 minutos y posteriormente se le adicionó gota a gota 0.3 mL de n-butilamina (30 minutos). Terminada la adición se aumentó la temperatura a 80 °C y se dejó en agitación por 24 h. Esquema 13.

Posteriormente se disminuyó la temperatura a 60 °C y se le adicionó a la mezcla 20 mL de HCl 1M. Terminada la adición se disminuyó la temperatura a 25 °C y se dejó en agitación por 2 h. Se obtuvo un líquido café oscuro, el producto de la reacción fue extraído con AcOEt (4 X 20 mL). La fase orgánica se trató con  $Na_2SO_4$  y concentró a

a presión reducida, obteniendo un aceite de color vino, al cual se le adicionó un poco de acetona y metanol (MeOH), enfriando toda la noche. Se obtuvieron cristales pequeños en forma de aguja de color naranja intenso. Se obtuvo un rendimiento del producto de 53%. **5** se purificó por recristalización con Acetona/MeOH para dar 39 % de producto puro (1.1046 g, 0.0029 mol) con p.f.: 187-189 °C (181-182 °C<sup>20</sup>),  $R_F = 0.44$  (Hex-AcOEt, 50:50), IR: pastilla KBr  $\nu_{max}$  3498.90, 3397.80, 3340.65  $\text{cm}^{-1}$  (O-H), 1627.39  $\text{cm}^{-1}$  (C=O), 1596.711  $\text{cm}^{-1}$  (C=C), 1276.71  $\text{cm}^{-1}$  (C=O), Espectro 7. <sup>1</sup>HRMN (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$ : 3.95(s, 6H, -OCH<sub>3</sub>), 5.80 (s, 1H), 5.85 (s, 1H), 6.47 (d,  $J=16$  Hz, 2H), 6.93 (d,  $J=8$  Hz, 2H), 7.05 (d,  $J = 2$  Hz, 2H), 7.12 (dd,  $J= 8.4, 2$  Hz, 2H), 7.59 (d,  $J=16$  Hz, 2H), Espectro 8.

#### 6.1.2.2. Acoplamiento de 1 con CDI.



Esquema 14. Acoplamiento de 1 con 2 en presencia de CDI y DBU para la formación de 4.

En un matraz de 3 bocas se puso a reaccionar **1** (2eq., 112 mg, 0.5429 mmol) y CDI (2.5 eq, 220.55mg, 1.3573 mmol), estos fueron suspendidos en 6 mL de THF anhidro a 40 °C con agitación por 3.5 h y atm de N<sub>2</sub>. Se siguió la formación del intermediario imidazólido por CCF (Hex-AcOEt, 9:1).

En otro matraz de dos bocas, se colocaron, DBU (2 eq., 82.65 mg, 0.5428 mmol) y **2** (100 mg, 0.2714 mmol) con 1mL de THF anhidro con atm de N<sub>2</sub> a reflujo de DBU por una hora. La mezcla de reacción **2** y DBU (intermediario curcuminoide) fue enfriado a temperatura ambiente y adicionado al matraz que contenía el intermediario imidazólido, en 3 mL de THF anhidro, se dejó en agitación vigorosa por 17 h a 50 °C, Esquema 14.

La reacción fue monitoreada en CCF sistema Hex-AcOEt, (5.5:4.5), el producto fue extraído con HCl al 10% y AcOEt, posteriormente la fase orgánica fue lavada con solución saturada de NaHCO<sub>3</sub> (2X10 mL), y con agua (2X10 mL), tratada con Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> y evaporada a presión reducida.

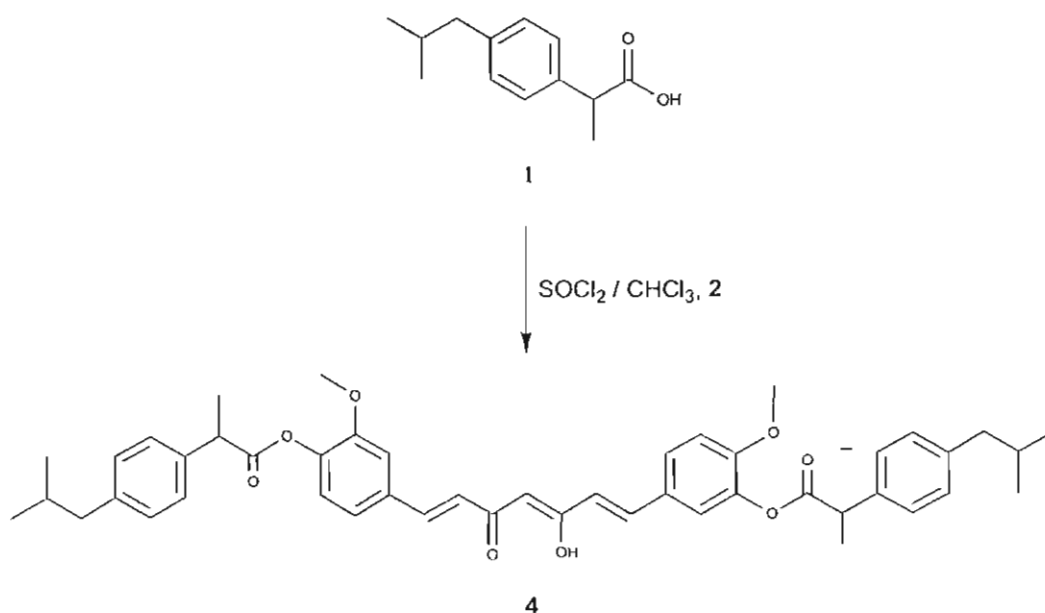
Se obtuvo un líquido aceitoso caoba oscuro, con un rendimiento crudo de (129.6 mg) 64% de una mezcla de productos con R<sub>F</sub> = 0.47 en sistema Hex-AcOEt, (5.5:4.5), IR: película  $\nu_{max}$  3352.30 cm<sup>-1</sup> (O-H probable híbrido), 1708.84 cm<sup>-1</sup> (C=O), 1625.66 cm<sup>-1</sup> (C=O, probable curcumina sin reaccionar), 1588.67 cm<sup>-1</sup> (C=C del probable híbrido), 1165.35 cm<sup>-1</sup> (C-O probable híbrido)

Se realizó percolación utilizando cromatografía flash y recolectando 5 fracciones de 15 mL. En la primera fracción se detectó presencia de un producto menos polar que el ibuprofeno con R<sub>F</sub> = 0.48 en sistema (Hex-AcOEt, 5.5:4.5) con IR  $\nu_{max}$ =

1721.72cm<sup>-1</sup> (C=O de éster), 1678.95 (C=O de cetona), 1605 (C=C de aromático) lo cual sugiere la formación de estructura propuesta, Espectro 9.

En las otras fracciones también se observó la presencia de producto, otros subproductos y materia prima.

### 6.1.2.3. Activación de **1** con SOCl<sub>2</sub>



Esquema 15. Activación de **1** con SOCl<sub>2</sub>.

En un matraz de tres bocas se puso a reaccionar **1** (2 eq., 112 mg, 0.5429 mmol) disuelto con 1mL de CHCl<sub>3</sub> con agitación y temperatura ambiente, posteriormente se le adicionó gota a gota SOCl<sub>2</sub> (1.1eq, 142.09 mg, 1.0858 mmol). Se mantuvo la mezcla de reacción a esas condiciones por 23 h, transcurrido este tiempo se adicionó trietilamina (TEA) hasta alcanzar un pH 7. Posteriormente, a la mezcla de reacción se le añadió **2** (200 mg, 0.5429 mmol) disuelto en 15mL de CHCl<sub>3</sub> y se dejó en agitación vigorosa a 50°C por 46 h, Esquema 15.

Se monitoreó la reacción mediante CCF (Hex-AcOEt, 5.5:4.5). La mezcla de reacción se extrajo con  $\text{CHCl}_3$  (2x10mL) y agua (2x15mL), la fase orgánica fue tratada con  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  anhidro y concentrada a vacío.

Se obtuvo un líquido viscoso naranja oscuro en un 84% (338.4 mg) de sólido amarillo fosforescente de una mezcla de productos que no pudieron ser separados por recristalización, ni por cromatografía en columna.

## **6.2 EVALUACIÓN DEL EFECTO ANTI-INFLAMATORIO**

### **6.2.1 Evaluación del efecto anti-inflamatorio de 2-(4-isobutilfenil)propanoato de 2-(4-isobutilfenil)propilo, 3, "ibuprofenato de ibuprofenilo".**

Se utilizaron 58 ratones CD1 de 20-30 g de peso divididos en grupos de 6 (Cuadro 4). Se mantuvieron con temperatura ambiente de  $22 \pm 2$  °C y ciclo luz-oscuridad 12-12 h, con alimento libre antes de dejarlos en ayuno. Se dejaron en ayuno, con hidratación libre, 18 h antes de los estudios.

El uso experimental de los animales fue considerando los lineamientos de la Norma Oficial NOM-062-ZOO-1999,<sup>92</sup> las normas éticas para la experimentación del dolor en animales,<sup>93</sup> y siguiendo las recomendaciones del Comité de Investigación y Ética de la Asociación Internacional para el Estudio del Dolor<sup>94</sup> así como, los lineamientos y Estándares Éticos para la Investigación del Dolor Experimental en Animales.<sup>95</sup>

**Cuadro 4.** Esquema de tratamiento de ibuprofeno e ibuprofenato de ibuprofenilo

Compuesto	
Ibuprofeno (n = 24)	Ibuprofenato de Ibuprofenilo (n = 36)
Grupo control	Grupo control
Dosis 1 (15mg/kg)	Dosis 1 (27.66 mg/kg)
Dosis 2 (30mg/kg)	Dosis 2 (39.07 mg/kg)
Dosis 3 (60 mg/kg)	Dosis 3 (55.34 mg/kg)
	Dosis 4 (78.18 mg/kg)
	Dosis 5 (110.6 mg/kg)

Las dosis de ibuprofeno se basaron en las empleadas por Telling<sup>96</sup> y las de ibuprofenato de ibuprofenilo fueron calculadas a valor equimolar con respecto a su fármaco precursor (ibuprofeno) y posteriormente a dosis intermedias del valor equimolar, Cuadro 5.

**Cuadro 5.** Dosis equimolares e intermedias de ibuprofenato de ibuprofenilo con respecto a su fármaco precursor

Activo			
Ibuprofeno		Ibuprofenato de ibuprofenilo	
mg	mmol	mg	Mmol
15	0.072	27.66	0.072
-	-	39.07*	0.102
30	0.145	55.34	0.145
-	-	78.16*	0.205
60	0.290	110.60	0.290

\*Dosis intermedias a las del fármaco precursor

Se preparó una solución de carragenina al 3%<sup>96</sup>, 18 horas antes de la evaluación del efecto anti-inflamatorio, utilizando como vehículo solución isotónica.

El día de la evaluación se preparó una solución de cloruro de sodio al 50%, con la cual se llenó el dispositivo del pletismómetro. Se determinó la lectura basal introduciendo la pata del ratón en el dispositivo, repitiendo 3 veces la lectura y se reportó la media  $\pm$  EE.

Las suspensiones de los principios activos fueron preparadas el día de la evaluación, estas fueron administradas por vía oral 0.1mL/10g de peso, después de la lectura basal, posteriormente se dejó transcurrir una hora y se inyectó el agente irritante por vía subplantar.

Se determinaron lecturas a 1, 3 y 6 horas de haber inducido la inflamación. Se determinó el volumen de desplazamiento y se comparó contra un control.

Se realizaron curvas Dosis vs Respuesta y Curso temporal se calculó inhibición Inflamatoria  $[(V_c - V_t)/V_c] \times 100$ , donde  $V_c$ , volumen desplazado del control y  $V_t$ , volumen desplazado del grupo tratado; se calculó el área bajo la curva (ABC del volumen desplazado).

Se utilizó el software GraphPad Prism para el análisis estadístico, ANOVA para cada grupo, prueba de Friedman para diferencia entre grupos de un mismo activo y prueba de Bonferroni para diferencia entre grupos de activos diferentes.

## 7. RESULTADOS

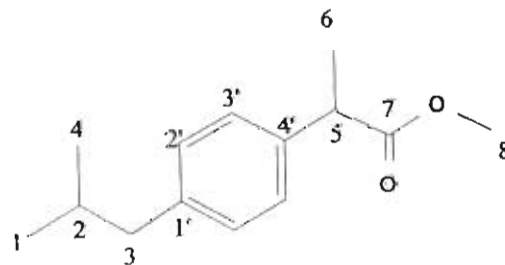
### 7.1. SÍNTESIS QUÍMICA

#### 7.1.1 Síntesis y caracterización de Ibuprofenato de metilo, 5.

El rendimiento obtenido de 5 fue 92%, corroborada su estructura por IR y  $^1\text{H}$  RMN, ver Figura 17, Cuadro 6.

**Cuadro 6.** Desplazamientos químicos de protón de 5

Posición	$^1\text{H}$ RMN (ppm)
1, 4	0.895 (d, $J=6.8$ Hz, 6H)
2	1.843 (n, $J=6.8$ Hz, 1H)
3	2.443 (d, $J=7.2$ , 2H)
5	3.695 (c, $J=7.2$ Hz, 1H)
6	1.484 (d, $J=7.2$ Hz, 3H)
7	-
8	3.654 (s, 3H) $\text{OCH}_3$
1'	-
2'	7.091 (d, $J=8$ Hz, 2H)
3'	7.193 (d, $J=8.4$ Hz, 2H)
4'	-



**Figura 17.** Estructura química de ibuprofenato de metilo

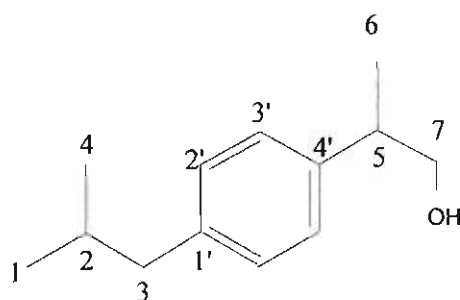


### 7.1.2. Síntesis y caracterización de Ibuprofenol, 6.

Se obtuvo de **6**, 83% de rendimiento, corroborando su estructura por sus espectros de IR y  $^1\text{H}$  RMN (Cuadro 7, Figura 18), así como su espectrometría de masas ( $m/z$  192).

**Cuadro 7.** Desplazamientos químicos de Protón de **6**

Posición	$^1\text{H}$ RMN (ppm)
1, 4	0.902 (d, $J=6.4$ Hz, 6H)
2	1.847 (n, $J= 6.8, 6.4$ Hz, 1H)
3	2.447 (d, $J=7.2$ , 2H)
5	2.917 (sxt, $J= 6.8$ Hz, 1H)
6	1.26 (d, $J= 6.8$ Hz, 3H)
7	3.677 (d, $J= 6.8$ Hz, 2H)
7	1.441 (s, 1H) –OH
8	-
1'	-
2'	7.10 (d, $J= 8$ Hz, 2H)
3'	7.139 (d, $J= 8.4$ Hz, 2H)
4'	-



**Figura 18.** Estructura química de ibuprofenol

### 7.1.3. Síntesis y caracterización de Ibuprofenato de ibuprofenilo, 3

Se obtuvo un rendimiento global del 60% de 3, la estructura de este compuesto fue confirmada con espectroscopia IR,  $^1\text{H}$  RMN,  $^{13}\text{C}$  RMN (Figura 19, Cuadro 8,) y espectrometría de masas ( $m/z$  378).

Cuadro 8. Desplazamientos químicos de  $^1\text{H}$  y de  $^{13}\text{C}$  de 3

Posición	$^1\text{H}$ RMN (ppm)	$^{13}\text{C}$ RMN (ppm)
1, 4, 13, 14	0.891 (d, $J=6.4$ Hz, 12H)	22
2, 12	1.84 (m, 2H)	31.85
3, 11	2.43 (m, 4H)	45
5	3.644(m, 1H)	46
6	-	177.27
7	4.123 (m, 2H)	70
8	2.993 (m, 1H)	38
9	1.434(dd, $J= 7.2, 2.85$ Hz, 3H)	18.5
10	1.17 (dd, $J= 7.2, 6.8$ Hz, 3H)	18
1'	-	140
2'	7.06 (dd, $J= 8, 2$ Hz, 2H)	127.5
3'	7.142 (dd, $J= 8.4, 2$ Hz, 2H)	129.6
4'	-	140
1''	-	140
2''	7.04 (s, 2H)	126.5
3''	7.023 (s, 2H)	129.5
4''	-	140

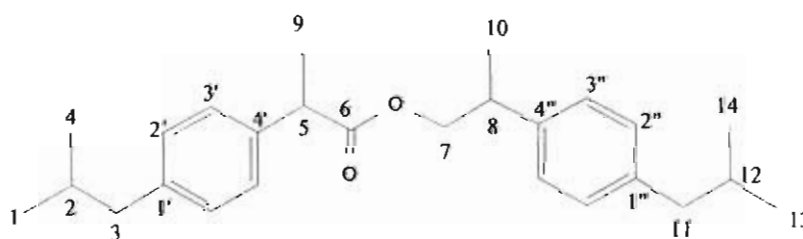


Figura 19. Estructura química de ibuprofenato de ibuprofenilo.

#### 7.1.4. Síntesis y caracterización de Curcumina, 2

Del compuesto 2 se obtuvo 53% de rendimiento, la estructura fue confirmada por los espectros obtenidos de IR y de  $^1\text{H}$  RMN, comparando con lo reportado en la literatura, Figura 20, Cuadro 9.

Cuadro 9. Desplazamientos químicos de  $^1\text{H}$  RMN de 2

Posición	$^1\text{H}$ RMN (ppm)
1,7	7.59 (d, $J=16$ Hz, 2H)
2,6	6.47 (d, $J=16$ Hz, 2H)
4	5.80 (s, enol, 1H), 16.04
8,9	3.95 (s, $-\text{OCH}_3$ , 6H)
1'	5.85 (s, $-\text{OH}$ , 1H)
3'	7.12 (dd, $J= 8.4, 2$ Hz, 2H)
5'	7.05 (d, $J=2$ Hz, 2H)
6'	6.93 (d, $J=8$ Hz, 2H)

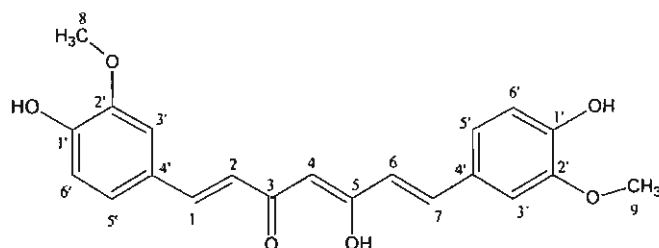


Figura 20. Estructura química de curcumina.

7.1.5. Síntesis y caracterización del híbrido Ibuprofeno-curcumina, 4. Las metodologías llevadas a cabo para la obtención de 4 (Figura 21) dieron los siguientes resultados:

1. Con el uso de CDI, THF y DBU se obtuvo el 9% de rendimiento mostrando señales por IR en  $1721.72\text{ cm}^{-1}$  ( $\text{C}=\text{O}$  de éster),  $1678.95$  ( $\text{C}=\text{O}$  de cetona),  $1605$  ( $\text{C}=\text{C}$  de aromático).

2. Con el uso de  $\text{SOCl}_2$  no se logró aislar producto puro. Se obtuvo 84% de rendimiento crudo.

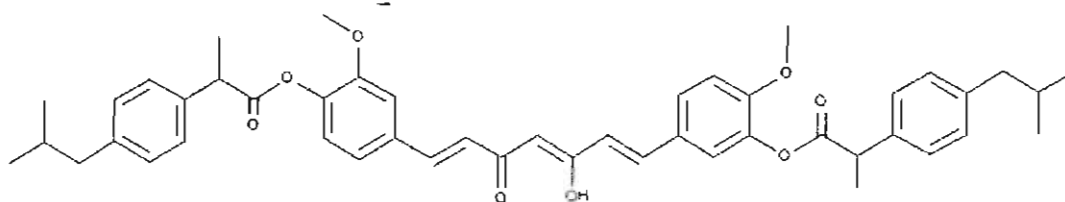


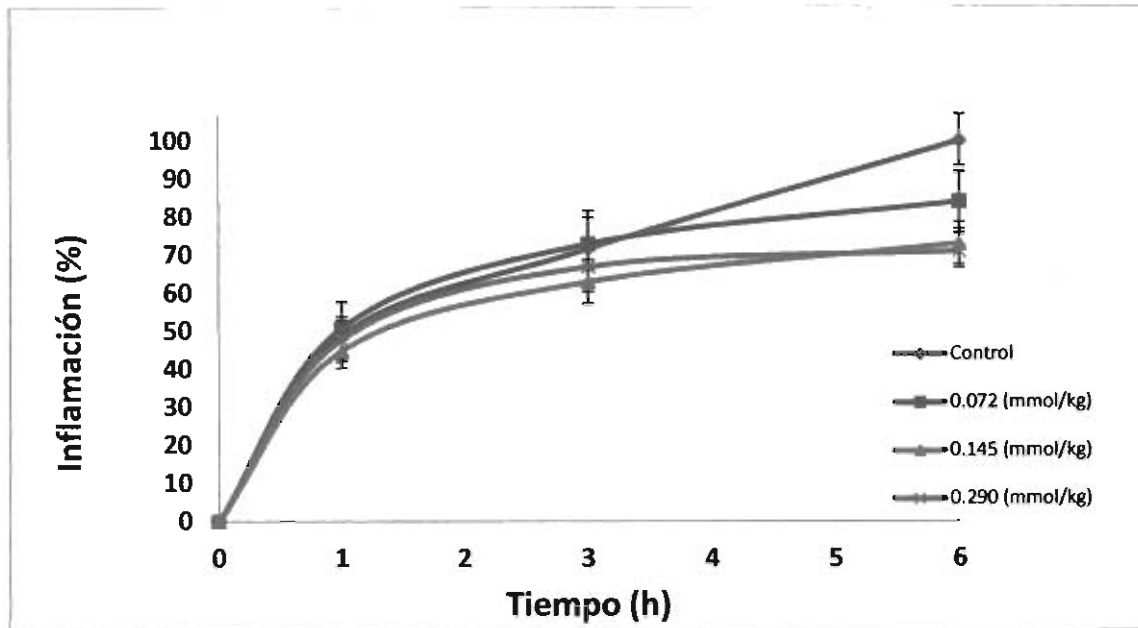
Figura 21. Estructura propuesta del híbrido ibuprofeno-curcumina, 4.

## 7.2. EVALUACIÓN DEL EFECTO ANTI-INFLAMATORIO

### 7.2.1. Curso temporal (CT) y Curva Dosis-Respuesta (CDR) de Ibuprofeno, 1

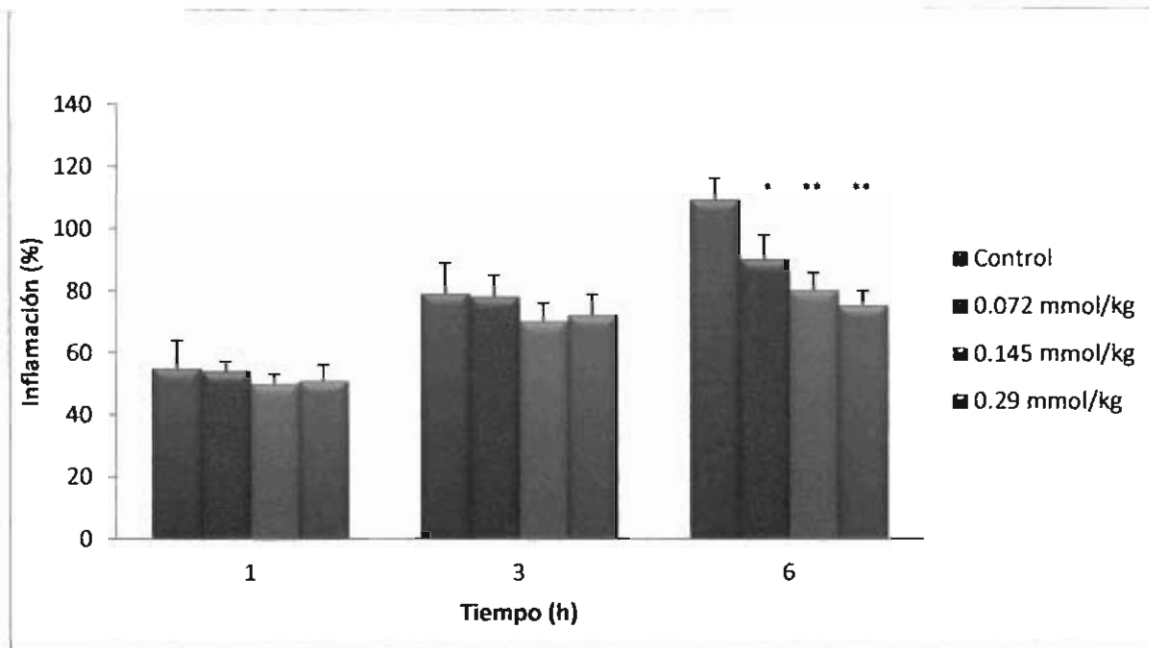
En el modelo de edema en la pata de ratón macho CD1 inducido por carragenina, la administración del ibuprofeno *per os* en diferentes dosis (Cuadro 4) produjo reducción de la respuesta inflamatoria.

Durante la primera hora no se observó el efecto anti-inflamatorio significativo comparado con el control con las dosis evaluadas. (Gráfico 1). Los valores porcentuales se presentan en el Cuadro 10.



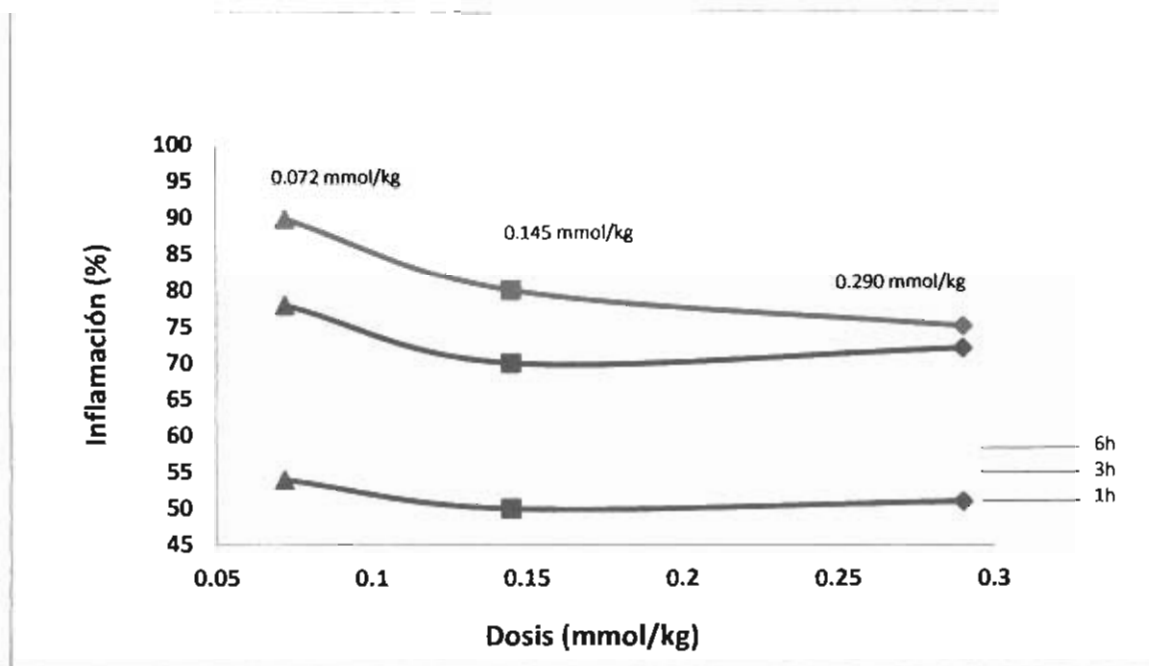
**Gráfico 1. Curso temporal de respuesta anti-inflamatoria de Ibuprofeno en ratones en valores porcentuales. Media  $\pm$  EE.** Los valores representan la media de la disminución de la inflamación (edema) en la pata del ratón (%), en los grupos tratados con diferentes dosis de ibuprofeno comparados con el grupo control. Dosis en mmol/kg. (n=6).

Se observó efecto significativo a la dosis de 15 mg/kg (0.072 mmol/kg) vs control a las 6 h ( $p < 0.05$ ), y en las dosis de 30 y 60 mg/kg (0.145 y 0.290 mmol/kg respectivamente) vs control ( $p < 0.001$ ) a las 6 horas. No se observó efecto a la primera hora en ninguna de las tres dosis (15, 30 y 60 mg/kg) con respecto al control. A las 3 h se observó el inicio del efecto inhibitorio con las dosis 30 y 60 mg/kg. No hubo diferencia significativa entre la dosis 30 y 60 mg/kg a 1, 3 y 6 h.



**Gráfico 2. Efecto anti-inflamatorio de Ibuprofeno tiempo y dosis dependiente.** Representación del incremento de la inflamación con respecto al tiempo, en valores porcentuales, en grupos con pre-tratamiento con ibuprofeno en diferentes dosis por vía oral en ratones. Las barras representan la media  $\pm$  EE (n=6), del efecto inflamatorio en el grupo control y tratados con ibuprofeno a diferentes dosis. Se observó efecto de reducción significativo al comparar el control vs dosis 0.072 mmol/kg y ( $p < 0.05$ ) altamente significativo control vs 0.145 y 0.290 mmol/kg ( $p < 0.001$ ) a las 6 h.

El efecto anti-inflamatorio por ibuprofeno inició a partir de las 3 h y fue significativo con respecto del grupo control a las 6 h en las tres dosis evaluadas. La dosis de 0.145 mmol/kg (30 mg/kg) presentó un efecto máximo ( $E_{m\acute{a}x}$ ) de 29% de actividad anti-inflamatoria con una diferencia significativa ( $p < 0.05$ ) con respecto al control, y un  $ABC = 1.85$  en la dosis de 0.290 mmol/kg (60 mg/kg), se observó una respuesta similar en magnitud (31%) ( $p < 0.001$ ) con respecto al grupo control (Cuadro 10).



**Gráfico 3. Curva dosis-respuesta del efecto anti-inflamatorio del edema en la pata del ratón del ibuprofeno.** El gráfico representa los valores porcentuales de inflamación de la pata. El ▲ representa la dosis de 0.072mmol/kg (15 mg/kg), el ■ representa los valores de 0.145 mmol/kg (30 mg/kg), los ◆ los valores de 0.290 mmol/kg (60 mg/kg). La línea roja es a 1 h, la azul a 3 h y la verde a 6 h. Post-administración del fármaco. (n=6.)

**Cuadro 10.** Efecto anti-inflamatorio en valores porcentuales de diferentes dosis de ibuprofeno en la inflamación en edema de pata en ratón

Dosis (mmol/kg)	Tiempo (h)	% Inflamación ± EE	% Inhibición respuesta inflamatoria
Control	1	52 ± 8.64	-
	3	76 ± 9.76	-
	6	106 ± 6.79	-
0.072	1	54 ± 3.00	+2
	3	77 ± 6.75	+1
	6	89 ± 7.48	-17*
0.145	1	48 ± 2.89	-4
	3	67 ± 5.78	-9
	6	77 ± 5.44	-29**
0.290	1	51 ± 5.00	-1
	3	71 ± 6.55	-5
	6	75 ± 4.40	-31**

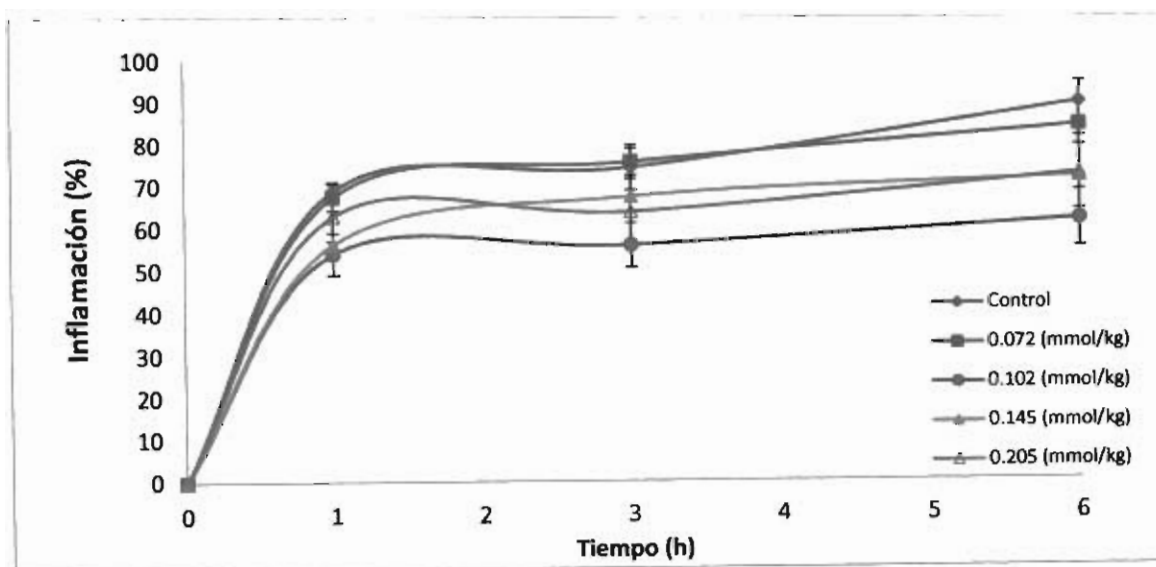
\*( $p < 0.05$ ), \*\* ( $p < 0.001$ ) comparado con el control. Signo (+) expresa incremento de inflamación comparado con el control y signo (-) expresa disminución de inflamación comparada con el control

### 7.2.2 Curso temporal (CT) y Curva Dosis-Respuesta (CDR) de ibuprofenato de ibuprofenilo, 3.

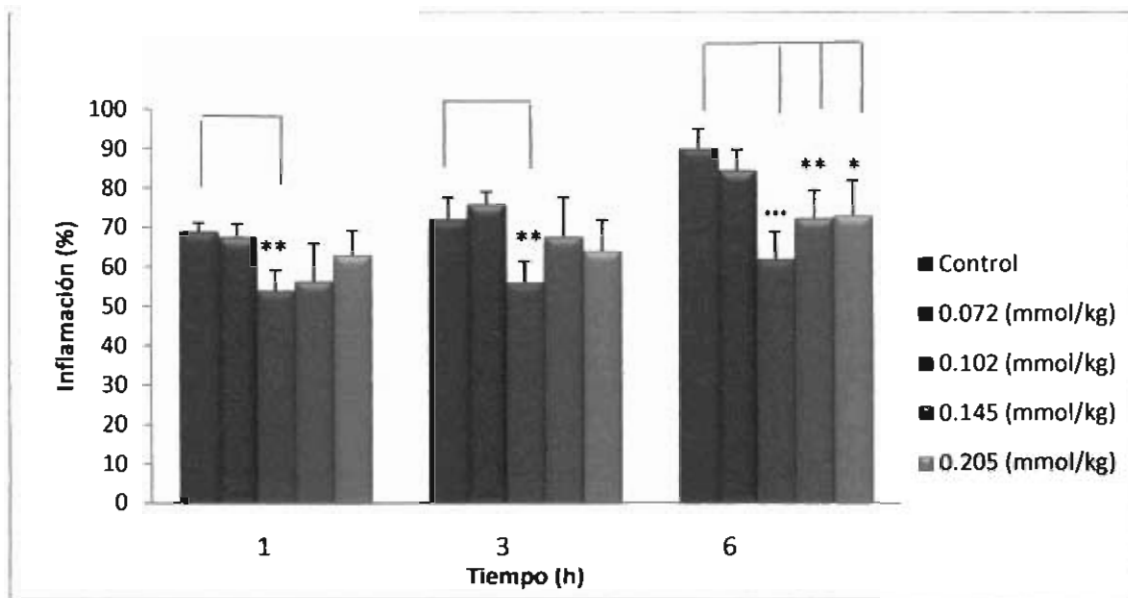
En el Gráfico 4 se representa el efecto de disminución del edema en ratón al administrar por la vía oral diferentes dosis del ibuprofenato de ibuprofenilo (Cuadro 4) en ratones previamente a la inducción de la respuesta inflamatoria por carragenina en la región plantar de ratones CD1.



Se observa que con la dosis de 27.66 mg/kg (0.072mmol) no hubo efecto anti-inflamatorio estadísticamente significativo comparado con el control en ninguno de los tres tiempos evaluados: 1, 3 y 6h. La dosis de 0.102 mmol/kg se observa un efecto anti-inflamatorio, a tiempo 1 y 3 h de 14 y 15%, respectivamente, y a las 6 h se observó un 27% menos inflamación comparado con el control, Cuadro 11 con un  $ABC = 1.36$ . Las dosis mayores de 0.145 y 0.205 mmol/kg, no incrementaron la respuesta inflamatoria comparados con la dosis de 0.102 mmol/kg.

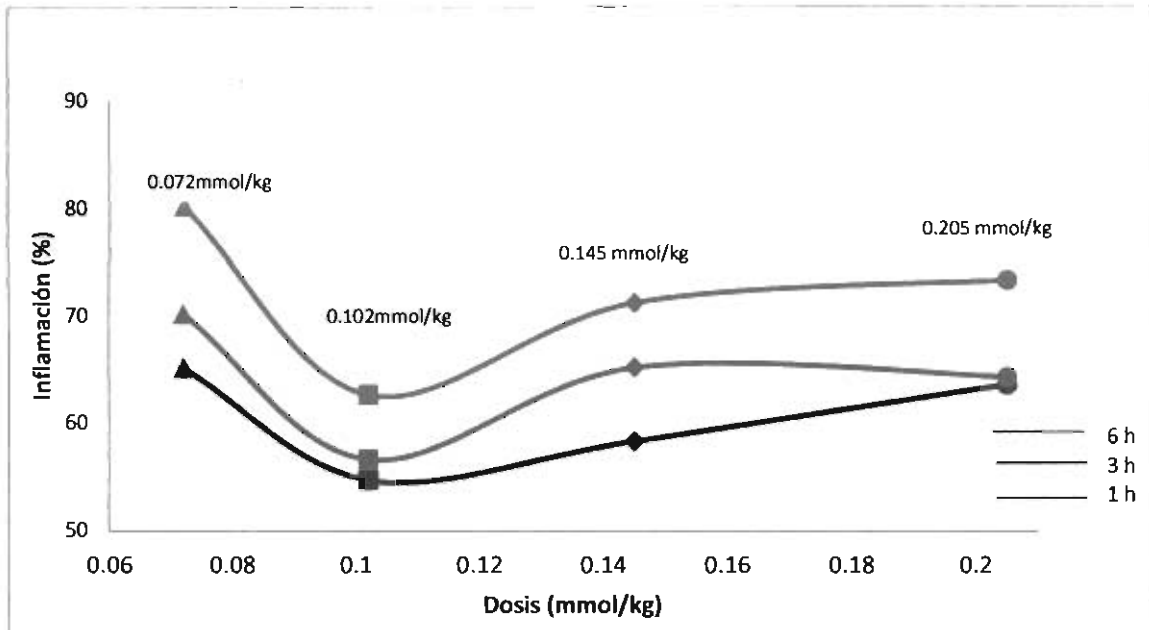


**Gráfico 4. Curso temporal de respuesta anti-inflamatoria de ibuprofenato de ibuprofenilo en ratones en valores porcentuales. Media  $\pm$  EE.** Los valores representan la media de la disminución de la inflamación (edema) en la pata del ratón (%), en los grupos tratados con diferentes dosis de ibuprofenato de ibuprofenilo comparados con el grupo control. Dosis en mmol/kg. (n=6).



**Gráfico 5. Efecto anti-inflamatorio de ibuprofenato de ibuprofenilo. Media  $\pm$  EE.** Los valores representan el incremento de la inflamación (%) del grupo control con respecto al tiempo, por el edema por carragenina (3%), y de los grupos tratados con diferentes dosis de ibuprofenato de ibuprofenilo pre-inducción de inflamación.

La dosis de 55.34 mg/kg (0.145 mm/kg) presentó un efecto anti-inflamatorio de duración hasta la 6ta h (19% menos comparada con el control,  $p < 0.001$ ). La dosis de 78.16 mg/kg (0.205 mm/kg) del profármaco, se observa una misma intensidad del efecto anti-inflamatorio que la dosis anterior (55.34 mg/kg, 0.145 mm/kg), mostrando que a esta dosis el efecto no se incrementa, y es el mismo perfil que con ibuprofeno.



**Gráfico 6. Curva dosis-respuesta del efecto anti-inflamatorio del edema en la pata del ratón del Ibuprofenato de ibuprofenilo.** El ▲ representa los valores inflamación en respuesta a la dosis de 0.072 mmol/kg, el ■ representa los valores de 0.102 mmol/kg, los ◆ son los valores de 0.145 mmol/kg. Los ● las cifras de 0.205 mmol/kg. La línea roja es a 1 h de haber inducido la inflamación, la azul a 3 h y la verde a 6 h. (n=6).

**Cuadro 11.** Efecto anti-inflamatorio en valores porcentuales de diferentes dosis de ibuprofenato de Ibuprofenilo en la inflamación en edema de pata en ratón

Dosis (mmol/kg)	Tiempo (h)	% Inflamación ± EE	%Inhibición inflamatoria con respecto al control
Control	1	69± 2.07	-
	3	72 ± 5.39	-
	6	90 ± 4.89	-
0.072	1	65 ± 3.14	-4
	3	75 ± 3.17	+3
	6	80 ± 4.97	-10
0.102	1	55 ± 5.01	-14**
	3	57 ± 5.27	-15**
	6	63 ± 6.75	-27***
0.145	1	58 ± 9.46	-11
	3	65 ± 9.85	-7
	6	71 ± 7.00	-19**
0.205	1	64 ± 5.96	-5
	3	64 ± 7.74	-8
	6	73 ± 8.73	-17*

\*( $p < 0.05$ ), \*\*( $p < 0.001$ ), \*\*\*( $p < 0.0001$ ) comparado con el control. Signo (+) denota incremento de inflamación comparado con el control y signo (-) denota disminución de inflamación comparada con el control

## 8. DISCUSIÓN

### 8.1. SÍNTESIS QUÍMICA

#### 8.1.1. Síntesis y caracterización de Ibuprofenato de metilo 5

El compuesto **5** (Figura 17), se sintetizó mediante una metilación con sulfato de dimetilo, Esquema 10. El rendimiento que se obtuvo (92%) fue superior al obtenido por Coumbarides<sup>98</sup> (72-83%), con NaH en MeOH y THF.

El ibuprofenato de metilo se caracterizó usando métodos espectroscópicos. En infrarrojo mostró una banda de estiramiento característica de un grupo C=O de éster en  $1739.73\text{ cm}^{-1}$ . En el cuadro 6 se presentan los datos de  $^1\text{H}$  RMN de **5**. Una de las señales más importantes y que corrobora la formación del éster se encuentra a 3.65 ppm como una señal simple que corresponde al metilo del metoxilo. En el espectro  $^1\text{H}$  RMN se observó una señal doble en 0.887 ppm que integra para 6 hidrógenos y una señal de nueve picos (nonuple) para un hidrógeno, una señal doble en 2.43 ppm para los hidrógenos bencílicos de la cadena alifática y una señal cuadruple en 3.69 ppm para H bencílico. Adicionalmente se observan las señales características para 4 hidrógenos aromáticos en 7.081 y 7.10 como dos señales dobles característicos de un sistema  $A_2B_2$ .

#### 8.1.2. Síntesis y caracterización de Ibuprofenol 6

El compuesto **5** se sometió a reducción con  $\text{NaBH}_4$  en THF-MeOH para dar el compuesto **6** (Figura 18, Esquema 11), con un rendimiento (82%). El alcohol se obtuvo en rendimientos cercanos a los reportados por Boecht<sup>77</sup>, a pesar de haber

llevado a cabo la síntesis a una temperatura de 55-60 °C, la cual es inferior a la reportada por este autor.

El compuesto fue caracterizado por las bandas que presentó en IR en  $\nu_{\max}$ : 3342.07  $\text{cm}^{-1}$  características del grupo OH y la desaparición de la banda del carbonilo del éster.

En el espectro de  $^1\text{H}$  RMN, se observó una señal doble en 0.894 ppm que integra para 6 protones, característico del isopropilo y en 1.831 una señal nonuple para el protón beta del isopropilo, así como en 2.9 ppm una señal séxtuple para el hidrógeno benílico beta del metilo y los 3.69 una señal doble que integra para dos hidrógenos del metileno beta del alcohol y un sistema aromático en 7.09 y 7.12 ppm característico de un sistema  $A_2B_2$  lo que comprueba la estructura de **6**, Cuadro 7.

### 8.1.3. Síntesis y caracterización de Ibuprofenato de ibuprofenilo, **3**

Por el acoplamiento del ibuprofeno previamente activado con CDI con ibuprofenol obtuvo **3** (Figura 19, Esquema 12), en un rendimiento global de 60%. Una ventaja de activar el carbonilo del ácido carboxílico con reactivos de acoplamiento, como el CDI, es que el subproducto es soluble en agua, además se evita el HCl generado cuando se preparan cloruros de ácido. El compuesto **3** presentó en IR unas señales en 1737.58 (C=O) y 1164.95  $\text{cm}^{-1}$  (C-O) para el carbonilo del éster. En  $^1\text{H}$  RMN se observaron señales traslapadas, dichas señales son debidas a que se obtuvo la mezcla racémica ya que no se trabajó con enantiómeros, se partió de ibuprofeno racémico y no del enantiómero puro.

En el Cuadro 8, se observan los valores de los desplazamientos del espectro de  $^1\text{H}$  RMN. Donde se observa un desplazamiento en 4.123 ppm para los protones de la posición 7, estos son diastereotópicos, debido a que el carbono al que están enlazados se encuentra vecino a un carbono quiral (carbono ubicado en la posición 8), cada uno presentó desplazamientos diferentes. En  $^{13}\text{C}$  RMN Se observó un desplazamiento en 177.27 ppm en el espectro el cual corresponde al carbono del carbonilo de éster.

#### 8.1.4. Síntesis y caracterización de Curcumina, 2

La curcumina, 2, se preparó por síntesis orgánica (Figura 20, Esquema 8), con un rendimiento de (53%), dicho rendimiento fue inferior al reportado por Feng y Liu<sup>99</sup> (93%, p.f.: 181-182°C) y al reportado por Pabón<sup>43</sup> (80%). La diferencia del 40 y 30%, respectivamente, puede deberse a la pureza de los cristales obtenidos en el presente trabajo, ya que el p.f alcanzado fue de 187-189°C comparado con el 181-182°C de Feng, *et al*<sup>99</sup> y Pabón.<sup>43</sup>

El rendimiento obtenido es mejor comparado con las cantidades que se obtienen por extracción de la raíz de *Curcuma Longa* 7%,<sup>42,100</sup> además existen ventajas sustanciales al sintetizarla, una de éstas es evitar la mezcla de compuestos curcuminoides extraídos en dicha raíz, otra es evitar el proceso de extracción y por último obtener mayor rendimiento.

Los datos de  $^1\text{H}$  RMN de la curcumina **2** sintetizada corresponden con los reportados por Xu Qiu (2008),<sup>90</sup> en donde se observan los protones vinílicos de las posiciones 2 y 6, 1 y 7, en 6.47 y 7.59 ppm, respectivamente, con una  $J = 16$  Hz para cada grupo, característica del acoplamiento de los protones vinílicos en configuración trans, la señal simple observada en 5.80 ppm es correspondiente al protón ácido ubicado en la posición 4 y su respectivo  $-\text{OH}$  en 16.04 ppm lo que permite aseverar que el equilibrio ceto-enólico se desplaza hacia el enol. Cuadro 9.

#### 8.1.5. Síntesis de híbrido ibuprofeno-curcumina, **4**.

Para la obtención de **4** por acoplamiento del imidazolido de ibuprofeno seguido de acoplamiento con curcumina (Figura 21) se probaron diferentes condiciones de reacción. Una fue utilizando DBU, Esquema 14, para aumentar la nucleofilia del fenol,<sup>84,85,86</sup> obteniendo por esta metodología 64% de rendimiento crudo y aislando 9% (18 mg) de un compuesto. Con las señales observadas por IR se sugiere que se obtuvo la estructura propuesta, observando presencia de señales en 1721.72 $\text{cm}^{-1}$  ( $\text{C}=\text{O}$  de éster) y 1678.95 ( $\text{C}=\text{O}$  de cetona), 1605 ( $\text{C}=\text{C}$  de aromático). Otra de las condiciones fue utilizando DMAP (dimetilaminopiridina) como catalizador, observándose por CCF y en Infrarrojo, únicamente presencia de curcumina, **2**. Otra alternativa que se probó, fue obtener el éster vía activación del ácido con  $\text{SOCl}_2$ , Esquema 15, para formar el cloruro de ácido, aumentando con ello la electrofilia del carbono del carbonilo del ibuprofeno, con la sustitución nucleofílica de los fenoles de **2**.



Se observó la formación de un producto amarillo fosforescente (en el matraz), este fue menos polar que el ácido, en CCF se observó un compuesto con un  $R_F$  (0.49) similar al obtenido por la ruta de síntesis utilizando CDI. El rendimiento crudo utilizando  $\text{SOCl}_2$  fue (83.66%). Sin embargo no se logró aislar ningún producto, como en el caso de la metodología con CDI.

La purificación del híbrido ha sido factor limitante para los posteriores análisis espectroscópicos. La purificación por columna no se pudo llevar a cabo, debido a la alta polaridad del compuesto, lo que ocasiona que se adhiera fuertemente a la sílice, por lo que permanece mucho tiempo en la columna, presentándose descomposición. En las fracciones recolectadas se observa en CCF, la presencia de **2**, así como la presencia de **1**. Se hicieron intentos de purificación por percolación, se observó el mismo patrón de descomposición.

La poca cantidad obtenida ha dado origen a la búsqueda de otras metodologías de purificación para evitar la descomposición del compuesto esperado.

## **8.2. EVALUACIÓN DEL EFECTO ANTI-INFLAMATORIO**

El objetivo de llevar a cabo la síntesis de una nueva molécula de ibuprofeno de tipo éster, el ibuprofenato de ibuprofenilo, nos condujo a evaluar su eficacia farmacológica al compararla con su molécula precursora.

En el modelo de edema en la pata de ratón inducido por carragenina en este estudio, la administración del ibuprofeno en diferentes dosis produjo reducción de la respuesta inflamatoria. El mayor efecto anti-inflamatorio se observó hasta la 6ta.

hora de post-administración. Como en el caso de otros fármacos tipo AINEs, el principal mecanismo descrito es la inhibición de la biosíntesis de PGs. Gambero y col. 2005, en el modelo en ratas reportaron que a este tiempo, 6 horas, se observa el mayor nivel de concentración de  $PGE_2$ ,<sup>33</sup> comparados en el grupo control, lo cual correlaciona con el mecanismo de efecto anti-inflamatorio observado en el grupo de ratones tratados con Ibuprofeno en nuestro estudio.

Este mismo grupo de investigadores, en el modelo *in vivo* en ratas, demostró el perfil de actividad inhibitoria del Ibuprofeno por inhibición de COX de una forma no selectiva. Adicionalmente a esta vía se han descrito otros mecanismos anti-inflamatorios independientes de la inhibición de la enzima COX, resaltando que este fármaco es además un inhibidor de la migración de leucocitos y cambios en la expresión de moléculas de adhesión.<sup>28</sup>

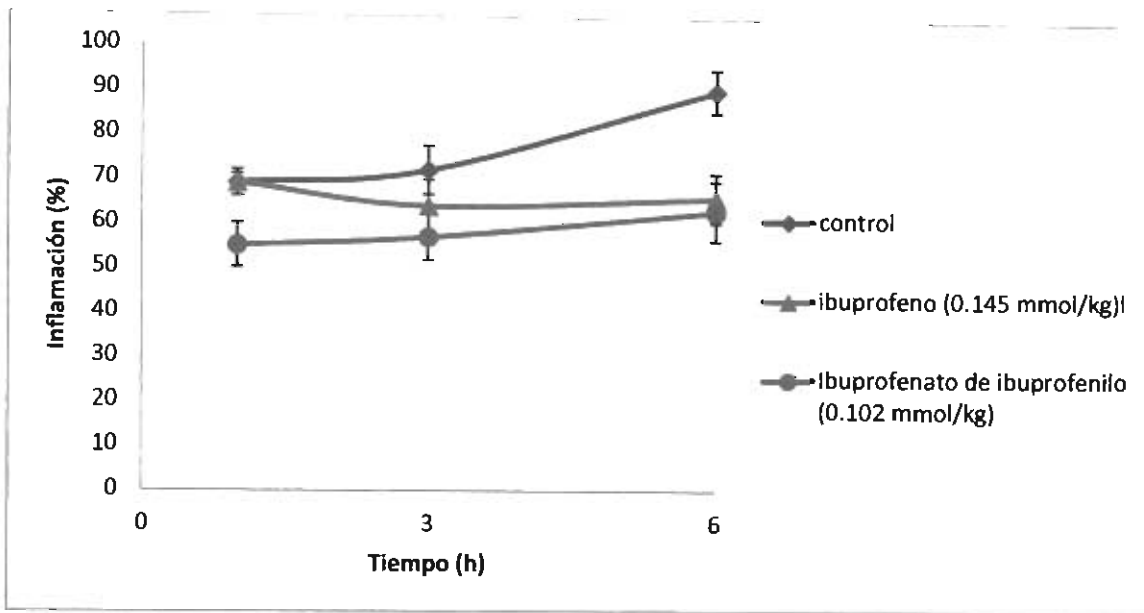
El Ibuprofenato de ibuprofenilo tiene un carácter lipofílico, por tanto se garantiza su biodisponibilidad en un pH ácido.<sup>66</sup> Después de su administración por la vía oral. Con los valores calculados de pKa y LogP: 5.04 y 8.08, respectivamente, del ibuprofenato de ibuprofenilo, se supone que esta molécula es absorbida sin modificación en el paso del tracto gastrointestinal por influencia del pH.

Al ser ibuprofenato de ibuprofenilo un profármaco de tipo éster, su disposición plasmática acopla una reacción de hidrólisis, por acción de las hidrolasas, tal como lo ha reportó Mork en 1992<sup>68</sup> y Zhao en el 2005<sup>69</sup> con profármacos de tipo éster. Lo anterior es una de las rutas hipotéticas de su metabolismo, la cual iniciaría con la hidrólisis del éster en plasma, y posteriormente mediante enzimas

oxido-reductasas hepáticas se convertiría a una molécula activa, el ibuprofeno, y el ibuprofenol inactivo, este último al unirse al complejo enzimático CYP450 hepático se biotransformaría en su forma oxidada, produciendo nuevamente la molécula activa: el ibuprofeno.

La otra ruta metabólica posible es su biotransformación directa en el hígado, por metabolismo de primer paso, en hepatocitos por el complejo CYP450, a su forma oxidada.

La dosis de (0.072 mmol/kg) no mostró diferencia significativa ( $p>0.05$ ) comparado con su molécula precursora a la dosis de 15 mg/kg (0.072mmol/kg) a los tiempos 1 y 3 h. El efecto máximo ( $E_{m\acute{a}x}$ ) alcanzado para ambos compuestos fue a la 6 h obteniendó el mismo efecto anti-inflamatorio ( $p>0.05$ ), comparados con el control se obtuvo una  $p<0.001$ , sin embargo la latencia no fue la misma. Comparando la magnitud del efecto anti-inflamatorio debido a la administración de la dosis de ibuprofeno de 30 mg/kg (0.145 mmol/kg) vs la dosis de 39.07 mg/kg (0.102 mmol/kg) de ibuprofenato de ibuprofenilo, se observó que hay diferencia altamente significativa a la 1 h. Gráfico 7.

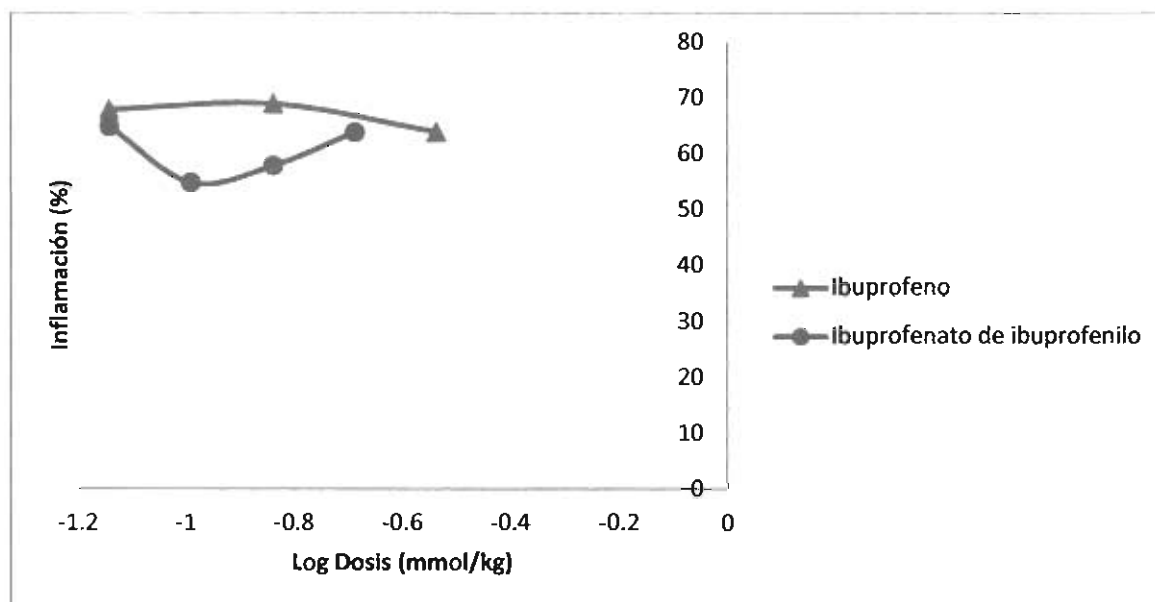


**Gráfico 7. Curso temporal de respuesta anti-inflamatoria de Ibuprofeno vs ibuprofenato de ibuprofenilo en ratones en valores porcentuales. n=6.** Los valores representan la media de la inflamación (%) en la pata del ratón. El ◊ representa los valores del control en el tiempo 1, 3 y 6 h. El ▲ representa los valores obtenidos con Ibuprofeno a una dosis de 0.145 mmol/kg en el tiempo de 1, 3 y 6 h y el ● representa los valores obtenidos con Ibuprofenato de ibuprofenilo a una dosis de 0.102 mmol/kg en el tiempo de 1, 3 y 6

Al tiempo de 1 h se observó para la dosis de 0.102 mmol/kg de ibuprofenato de ibuprofenilo un 14% menos inflamación comparada con el control. Si se compara con su precursor el Ibuprofeno en esta hora el efecto observado fue de solo un 4% menos inflamación de la dosis de ibuprofeno comparada con el control, Cuadros 8 y 9. Además se observó que la duración del efecto anti-inflamatorio para ibuprofenato de ibuprofenilo se mantuvo desde la 1ra h hasta la 6ta h, Gráfico 4, este efecto no fue obtenido con su molécula precursora. Ambas diferencias nos puede indicar una mejor biodisponibilidad del profármaco, lo cual incrementa desde esta primera hora el efecto en respuesta a la inflamación periférica originada por el agente flogístico. Si este efecto es dependiente de la disposición de las enzimas plasmáticas o hepáticas que llevan a cabo las reacciones para

liberar la molécula activa. Sin embargo, en la siguiente dosis no se observa la misma respuesta en las dos primeras horas. Esto podría asociarse que el aumento de la dosis al doble podría no favorecer o limitar la eficacia del profármaco en una dosis menor.

No se observó diferencia al comparar la potencia y eficacia de ambos compuestos (ibuprofeno vs ibuprofenato de ibuprofenilo) por lo que son equipotentes y equieficaces, Gráfico 8.



**Gráfico 8. Curva dosis respuesta del efecto anti-inflamatorio de Ibuprofeno vs Ibuprofenato de ibuprofenilo. (n=6). El ▲ representa el ibuprofeno y el ● representa ibuprofenato de ibuprofenilo**

La dosis efectiva (DE) al 30% de inhibición inflamatoria para ibuprofenato de ibuprofenilo fue de 0.102 mmol/kg la cual es menor a la obtenida con ibuprofeno, está fue de 0.145 mmol/kg.

Tomando en cuenta el cálculo del ABC el cuál representó para este estudio el volumen desplazado de la pata del ratón por un proceso inflamatorio, para

ibuprofenato de ibuprofenilo se obtuvo un ABC menor a la dosis de 0.102 mmol/kg comparada con su precursor (ibuprofeno) a la dosis de 0.145 mmol, lo cual corrobora que el grupo tratado con ibuprofenato de ibuprofenilo presentó un efecto anti-inflamatorio de mayor magnitud, Cuadro 12.

**Cuadro 12.** ABC de Ibuprofeno vs ABC de Ibuprofenato de ibuprofenilo

<b>Compuesto</b>	<b>Dosis (mmol/kg)</b>	<b>ABC</b>
<b>Ibuprofeno</b>	0.145	1.85
<b>Ibuprofenato de ibuprofenilo</b>	0.102	1.36

La elección de sintetizar un profármaco de Ibuprofeno se justifica por el hecho de que el ibuprofeno es un fármaco de amplio uso en clínica en población amplia: en el manejo de la fiebre en niños.<sup>101</sup> Su eficacia ha sido evaluada por la disminución de la temperatura 3h post-administración, observando efecto antipirético significativo en infantes febriles.<sup>102</sup> En estudios clínicos, se ha evaluado la eficacia del Ibuprofeno para el tratamiento del dolor post-operatorio (vía IV), observando que es efectivo, bien tolerado y presenta menores índices de trastornos gastrointestinales vs grupo placebo.<sup>103</sup>

## 9. CONCLUSIONES

Se sintetizaron y caracterizaron por métodos espectroscópicos, el ibuprofenato de ibuprofenilo y sus precursores.

La curcumina sintetizada se obtuvo en una relación 7.5 veces mayor por síntesis como único producto, comparada con la obtenida por extracción.

En las condiciones utilizadas no se pudo aislar el híbrido de ibuprofeno-curcumina.

El efecto anti-inflamatorio del ibuprofenato de ibuprofenilo fue equipotente y equieficaz, en dosis equimolares comparado con el efecto del su precursor ibuprofeno, presentó un mejor perfil de respuesta en la primera fase de la evaluación inflamatoria, ya que incrementó la actividad anti-inflamatoria en 3.5 veces en la primera hora, 1.6 veces a las tres horas y es igual a las 6 horas, en la dosis menor de  $102 \text{ mmol/kg}$ . Este incremento puede asociarse a su mejor biodisponibilidad desde el tracto gastrointestinal, lo cual redundó en un efecto anti-inflamatorio desde la primera hasta la sexta hora post-administración.

## 10. BIBLIOGRAFÍA

1. Rang H., Dale M., Ritter J., Flower. R. Rang y Dale. Farmacología. Ed. Mosby, 6a edición, **2008**, 244.
2. Caunedo A., Gómez J., Romero J., Argüelles F. Macroscopic small bowel mucosal injury caused by chronic nonsteroidal anti-inflammatory drugs (NSAID) use as assessed by capsule endoscopy. *Rev Esp Enferm Dig.* **2010**, *102*, 80-85.
3. Bharat B., Kuzhuvilil B. Potential Therapeutic Effects of Curcumin, the Anti-inflammatory Agent, Against Neurodegenerative, Cardiovascular, Pulmonary, Metabolic, Autoimmune and Neoplastic Diseases. *Int J Biochem Cell Biol.* **2009**, *41*, 40–59.
4. Tiang L., Shuo F. Medicinal Chemistry of Bioactive Natural Products. Ed. Wiley-Interscience, **2006**, 143-172.
5. Viegas Jr., Danuello A., da Silva B., Barreiro E., Manssour F. Molecular Hybridization: A Useful Tool in the Design of New Drug Prototypes. *Curr Med Chem.* **2007**, *14*, 1829-1852.
6. García R., Izquierdo S., García T. La inflamación aguda, generalidades en Inflamación: mecanismos bioquímicos e inmunológicos del daño tisular y bases farmacológicas de su tratamiento. UAM, 1ra ed. **2006**.
7. Vega R. Inflamación. UNAM. *Rev. Fac. Med.* **2008**, *51*, 5.
8. Rosenberg, H., Gallin J., In: Paul, W.E. Fundamental Immunology. 4th. Lippincott Williams Wilkins. (CD-ROM), **1996**. Chap 32.



9. Praveen P., Saád N., Tarek M. Nonsteroidal Anti-Inflammatory Drugs (NSAIDs): Progress in Small Molecule Drug Development. *Pharmaceuticals*. **2010**, *3*, 1530-1549.
10. Waltenberger B., Wiechmann K., Bauer J., Markt P., Noha S., Wolber G., Rollinger J., Werz O., Schuster D., Stuppner H. Pharmacophore Modeling and Virtual Screening for Novel Acidic Inhibitors of Microsomal Prostaglandin E<sub>2</sub> Synthase-1 (mPGEs-1). *J. Med. Chem.* **2011**, *54*, 3163-3174.
11. Coruzzi Gabriella, Nicola Venturi, Silvana Spaggiari Gastrointestinal safety of novel nonsteroidal antiinflammatory drugs: selective COX-2 inhibitors and beyond. *ACTA BIOMED.* **2007**, *78*, 96-110.
12. Brooks P., Emery P., Evans J., Fenner H., Hawkey C., Patrono C., Smolen J., Breedveld F., Day R., Dougados M., Ehrich E., Gijon-Baños J., Kvien T., Van Rijswijk M., Warner T., Zeidler H. Interpreting the clinical significance of the differential inhibition of cyclooxygenase-1 and cyclooxygenase-2. *Rheumatology*. **1999**, *38*, 779-788.
13. Chaignat H.; Danuser M.; Stoffel, Z' Brun S.; Studer U.; y Mevissen M. Effects of a non-selective COX inhibitor and selective COX-2 inhibitors on contractility of human and porcine ureters in vitro and in vivo. *Br. J. Pharmacol.* **2008**, *154*, 1297-1307.
14. Chandrasekharan V., Dai H., Turepu R., Evanson N., Tomsik J., Elton T. Simmons D. COX-3, a cyclooxygenase-1 variant inhibited by acetaminophen and other analgesic/antipyretic drugs: Cloning, structure, and expression. *PNAS.* **2002**, *99*, 21, 13926-13931.

15. Raaben M., Einerhand A., Taminiou L., de Haan C., Raatgeep R., Bouma J., van Houdt M., Rossen J. Cyclooxygenase activity is important for efficient replication of mouse hepatitis virus at an early stage of infection. *Virology Journal*. **2007**, *4*, 1-5.
16. Hernández C. Analgésicos antiinflamatorios no esteroideos en el niño. *Anestesia en México*. **2006**, *18*, 28-38.
17. Carrillo E. Clínicas Mexicanas de Anestesiología. Actualidades del dolor. Ed. Afil. Vol. 14. Capitulo 5. **2011**,64-82.
18. Parmeshwari K. H.; Prashant R. M.; Rajani G.; Mange R. Y. Prodrug Designing of NSAIDs *Mini-Reviews in Med. Chem.*, **2009**, *9*, 124-139.
19. Ong C., Lirk P., Tan C., Seymour R. Nonsteroidal anti-inflammatory drugs (NSAIDs), including both traditional nonselective NSAIDs. *Clin. Med. & Res*. **2007**, *5*, 19-34.
20. Mizrahi B., Domb A. Anhydride Prodrug of Ibuprofen and Acrylic Polymers *AAPS Pharm. Sci. Tech.*, **2009**, *10*, 453-458.
21. Brocks, D.; Jamali F. The pharmacokinetics of ibuprofen in humans and animals. In: Rainsford KD (ed) Ibuprofen. A critical bibliographic review. Taylor & Francis, London, **1999**, 89–142.
22. Geisslinger G., Stock K., Loew D, Bach G., Brune K. Variability in the stereoselective disposition of ibuprofen in patients with rheumatoid arthritis. *Br J Clin Pharmacol*. **1993**, *35*, 603–607
23. Boneberg E., Zou M., Ullrich V. Inhibition of cyclooxygenase-1 and -2 by *R*(-) and *S*(+)-ibuprofen. *J Clin Pharmacol*. **1996**, *36*, 16–19.
24. Jeffrey P, Tucker GT, Bye A, Crewe H, Wright P. The site of inversion of *R*(-)-

- ibuprofen: studies using rat in situ isolated perfused intestine/liver preparations. *J Pharm Pharmacol.* **1991**, *43*,715–720
25. Scheuaren N., Bang H., Münster T., Brune K., Andreas Pahl. Modulation of transcription factor NF- $\kappa$  $\beta$  by enantiomers of the nonsteroid drug ibuprofen. *Brit J Pharmacol.* **1998**, *123*, 647-652.
  26. Voilley N., de Weille J., Mamet J., Lazdunski M. Nonsteroid anti-inflammatory drugs inhibit both activity and the inflammation induced expression of acid-sensing ion channels in nociceptors. *J Neurosci.* **2001**, *21*, 8026-8033.
  27. Kapiotis S., Sengoelge G., Sperr W. Ibuprofen inhibits pyrogen-dependent expression of VCAM-1 and ICAM-1 on human endothelial cells. *Life Sci.* **1996**, *58*, 2167-2181.
  28. Hofbauer R., Speiser W. and Kapiotis S. Ibuprofen inhibits leukocyte migration through endothelial cell monolayers. *Life Sci.* **1998**, *62*, 1775–1781.
  29. Nielsen V., Webster R., Inhibition of human polymorphonuclear leukocytes functions by ibuprofen. *Immunopharmacol.* **1987**, *13*, 61-71.
  30. Konstan M., Byard P., Hoppel C., Davis P. Effect of high dose ibuprofen in patients with cystic fibrosis. *N Engl J Med.* **1995**, *13*, 848–854.
  31. Rainsford KD. History and development of ibuprofen. In: Rainsford KD (ed) Ibuprofen. A critical bibliographic review. Taylor & Francis, London, **1994**, pp 3–24.
  32. Burian M, Geisslinger G. COX-dependent mechanisms involved in the antinociceptive action of NSAIDs at central and peripheral sites. *Pharmacol Therap.* **2005**, *107*,139–154.

33. Rainstford K.D. Ibuprofen: pharmacology, efficacy and safety. *Inflammopharmacol.* **2009**; *17*, 275-342.
34. Ministerio de Sanidad Política y Social e Igualdad. Agencia Española de Medicamentos – y Productos Sanitarios. Ibuprofeno. **2011**, 1-9 <http://www.aemps.gob.es/>
35. Nicoletti F., Howes B., Fittipaldi M., Fanali G., Fasano M., Ascenzi P., Smulevich G. Ibuprofen induces an allosteric conformational transition in the heme complex of human serum albumin with significant effects on heme ligation. *J. Am. Chem. Soc.* **2008**, *130*, 11677-88
36. Baños D., Farré A. Principios de farmacología clínica Bases científicas de la utilización de medicamentos Ed. Masson, **2002**, 42.
37. Gyires, K. Some of the factors that may mediate or modify the gastrointestinal mucosal damage induced by non-steroidal anti-inflammatory drugs. *Inflamm Res.* **1994**, *41*, 71-79.
38. Gambero A., Becker T., Silva A., Fermino de Oliveira A., Pedrazzoli J. Comparative study of anti-inflammatory and ulcerogenic activities of different cyclo-oxygenase inhibitors. *Inflammapharmacology.* **2005**, *13*, 441-445.
39. Zhongqiu L., Ming H. Natural Polyphenol Disposition via Coupled Metabolic Pathways. *Expert Opin Drug Metab Toxicol.* **2007**, *3*, 389–406
40. Queen B., Tollefsbol T., Polyphenols and Aging. *Curr Aging Sci.* **2010**, *3*, 34-42.
41. Jurenka J. Anti-inflammatory Properties of Curcumin, a Major Constituent of *Curcuma longa*: A Review of Preclinical and Clinical Research Alternative Medicine **2009**, *14*, 141-153.

42. Ríos V., Duque C., León R. Caracterización espectroscópica y cromatográfica de curcumina extraída de los rizomas de *Cúrcuma (cúrcuma longa L.)* Cultivada en el departamento del Quindío *Rev. Invest. Univ. Quindío*. **2009**, *19*, 18- 22.
43. Pabon H. A synthesis de of curcumin and related compounds. *Recueil des Travaux Chimiques des Pays-Bas*. 1964, *83*, 379–386.
44. Calabrese V., Bates T., Mancuso C., Cornelius C., Ventimiglia B., Cambria T., Di Renzo L., De Lorenzo A., Dinkova-Kostova A. Curcumin and the cellular stress response in free radical-related diseases. *Mol. Nutr. Food Res*. **2008**, *52*, 1062 – 1073.
45. Ghatak N., Basu N. Sodium Curcuminates as an effective anti-inflammatory agent, *Ind. J. Expt. Biol*, **1972**, *10*, 235-236.
46. Begum A., Jones M., Lim G., Morihara T., Kim P., Heath D., Rock C., Pruitt M., Yang F., Hudspeth F., Hu S., Faull K., Teter B., Cole G., Frautschy S. Curcumin structure-Function, bioavailability, and efficacy in models of neuroinflammation and Alzheimer's disease. *J Pharmacol Exp Ther*. **2008**, *326*, 196–208.
47. Sugiyama Y., Kawakishi S., Osawa T. Involvement of the beta-diketone moiety in the antioxidative mechanism of tetrahydrocurcumin. *Biochem. Pharmacol*. **1996**, *52*, 519–525.
48. Chen W., Deng S., Zhou B., Yang L., Liu Z., Curcumin and its analogues as potent inhibitors of low density lipoprotein oxidation: H-atom abstraction from the phenolic groups and possible involvement of the 4-hydroxy-3-methoxyphenyl groups. *Free Radical Biol. Med*. **2006**, *40*, 526–535.

49. Jian-Ming Lüa, Peter H. Lina B., Qizhi Yaoa, and Changyi Chena. Chemical molecular mechanisms of antioxidants: Experimental approaches and model systems. *J Cell Mol Med.* **2010**, *14*, 840–860.
50. Martínez S. Especies reactivas del oxígeno y balance redox, parte I: aspectos básicos y principales especies reactivas del oxígeno. *Rev Cub Farm.* **2005**, *39*, 3.
51. Venereo G. Daño oxidativo, radicales libres y antioxidantes. *Rev Cub Med Mil [online].* **2002**, *31*, 126-133.
52. Ringman J., Frautschy S., Cole G., Donna L., Jeffrey L. Cummings A Potential Role of the Curry Spice Curcumin in Alzheimer's Disease. *Curr Alzheimer Res.* **2005**, *2*, 131–136.
53. Kumar A., García G., Ghosh R., Rajnarayanany R., Alworth W., Slaga T. 4-Hydroxy-3-Methoxybenzoic Acid Methyl Ester: A Curcumin Derivative Targets Akt/NFKB Cell Survival Signaling Pathway: Potential for Prostate Cancer Management. *Neoplasia.* **2003**, *5*, 255 – 266.
54. Ortiz M. A., Morán J., Bravosanpedro J., González R., Niso M., Anantharam V., KanthasamyA. G., Soler G., y Fuentes J. Curcumin Enhances Paraquat-Induced Apoptosis of N27 Mesencephalic Cells Via the Generation of Reactive Oxygen Species *Neurotoxicology.* **2009**, *30*, 1008–1018.
55. Ireson C., Jones D., Orr S., Coughtrie M., Boocock D., Williams M., Farmer P., Steward W., Gescher A. Metabolism of the Cancer Chemopreventive Agent Curcumin in Human and Rat Intestine. *Cancer Epidemiology, Biomarkers & Prevention* **2002**, *11*, 105–111.

56. Wang Y., Pan M., Cheng A. Stability of curcumin in buffer solutions and characterization of its degradation products. *J Pharm Biomed Anal.* **1997**, *15*, 1867-1876.
57. Mishra S., Narain U., Mishra R., Mishra K. Design, development and synthesis of mixed bioconjugates of piperic acid-glycine, curcumin-glycine/alanine and curcumin-glycine-piperic acid and their antibacterial and antifungal properties. *Bioorg. Med. Chem.* **2005**, *13*, 1477-1486
58. Ireson C., Jones D.; Orr S. Ester-induced Prostaglandin E2 Production *Vivo*, and Evaluation of Their Ability to Inhibit Phorbol Curcumin in Human and Rat Hepatocytes and in the Rat *in Characterization of Metabolites of the Chemopreventive Agent.* *Cancer Res.* **2001**, *61*, 1058-1064.
59. Basu, N. K., Ciotti, M., Hwang, M. S., Kole, L., et al., Differential and special properties of the major human UGT1-encoded gastrointestinal UDP-glucuronosyltransferases enhance potential to control chemical uptake, *J. Biol. Chem.* **2004**, *279*, 1429-1441.
60. Oetari, S., Sudibyo, M., Commandeur, J. N., Samhoedi, R., Vermeulen, N. P., Effects of curcumin on cytochrome P450 and glutathione S-transferase activities in rat liver, *Biochem. Pharmacol.* **1996**, *51*, 39-45.
61. Cheng A., Hsu C., Lin J., Hsu M., Ho, Y., Shen T., Ko J., Lin J., Lin B., Ming-Shiang W., Yu, H., Jee S., Chen G., Chen T., Chen C., Lai, M. K.; Pu Y., Pan M., Wang Y., Tsai C., Hsieh C. Phase I clinical trial of curcumin, a chemopreventive agent, in patients with high-risk or premalignant lesions. *Anticancer Res.* **2001**, *21*, 2895-2900.

62. OFICINA ESPAÑOLA DE PATENTES Y MARCAS, Pro-profármacos, su producción y uso. **1994**, 2, 148-259.
63. Wermuth, C. G. *The Practice of Medicinal Chemistry*. Second edition, Ed. Elsevier, **2003**, 251-270.
64. Galbis, P. J. A. Capítulo 6. Diseño de fármacos por modulación de su farmacocinética en *Panorama Actual de la Química Farmacéutica*, Ed. Universidad de Sevilla, **2000**, 125-168.
65. Vaddi H., Banks S., Chen J. Hammell D., Crooks P. and Stinchcomb A.1 human skin permeation of 3-o-alkyl carbamate prodrugs of naltrexone. *J Pharm Sci.* **2009**, 98, 2611–2625.
66. Avendaño C. *Introducción a la Química Farmacéutica. Síntesis de péptidos*. Ed. McGraw-Hill Interamericana. 2da ed., **2001**, 704.
67. Shaaya O., Magora A., Sheskin T., Kumar N. and Domb A. Anhydride Prodrugs for Nonsteroidal Anti-Inflammatory Drugs. *Pharm. Res.*, **2003**, 20, 205-211.
68. Mork N., Bundgaard H. Stereoselective enzymatic hydrolysis of various ester prodrugs of ibuprofen and flurbiprofen in Human plasma. *Pharm. Res.*, **1992**, 9, 492-496.
69. Zhao X., Chen D., Gao P., Ding P., Li K. Synthesis of ibuprofen eugenol ester and its microemulsion formulation for parenteral delivery. *Chem Pharm. Bull.* **2005**, 53, 1246-1250.
70. Soyka, R., Heckel, A., Nikl, J., Eisert, W., Muller, T.H. and Weisenberg, H. 6,6-Disubstituted hex-5-enoic acid derivatives as combined thromboxane A2 receptor antagonists and synthetase inhibitors. *J. Med. Chem.* **1994**, 37,26-39.



71. Bremner J., Ambrus J., Samosorn S. Dual action-based approaches to antibacterial agents. *Curr Med Chem.* **2007**, *14*, 1459-1477.
72. Pilla V., Botelho C., Andrade A. Paula R., Fagundes E., Valverde A., Mayer L., Souza J., de Souza M., Boechat N., Ursine K. Synthesis, Antimalarial Activity, and Intracellular Targets of MEFAS, a New Hybrid Compound Derived from Mefloquine and artesunate. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy.* **2008**, *52*, 3868-3874.
73. Seyhan E., Química orgánica, estructura y reactividad tomo 1, Ed. Reverté, 3era ed., Capítulo 14 ácidos carboxílicos y derivados I. reacciones de sustitución nucleofílica en el grupo carbonilo. **2000**, 626-630.
74. Carey F. and Sundberg R. Advanced Organic Chemistry. Part B: Reactions and Synthesis. Ed. Klumer Academic/Plenum Publishers. **2001**, 4th edition. 166-172.
75. Mc Murry J. Química Orgánica. Ed. Thomson editores. 5ta edición. **2001**, 654, 753, 814.
76. Yukarnis B. Organic Chemistry. Ed. Pearson Education. 4th edition. **2004**, 743-745.
77. Boechat N., Santos da Costa J., de Souza J., Ceodaro K., Lopes E., Santos P., Rocha T., de Souza M. Simple Reduction of heteroaromatic Ester to Alcohols Using a Sodium Borohydride. Methanol System. *Syn. Com.* **2005**, 3187-3190.
78. Saeed A., Ashraf Z. Sodium borohydride reduction of aromatic carboxylic acids via methyl esters. *J. Chem. Sci.* **2006**, *118*, 419-423.

79. Chung L., Xing J., Ren Jie, Pitman C., Jie H. Unexpected Selectivity in Sodium Borohydride reductions of  $\alpha$ -Substituted Ester: Experimental and Theoretical Studies. *Eur Org Chem.* **2006**, 1981-1990.
80. González M., Ramos M., Jimenez C., Ponce M., Castillo C., Tejeda R., Cuevas V., Enriquez K. A Germination Bioassay as a Toxicological Screening System for studying the effects of Potential Prodrugs of Naproxen. *ATLA.* **1998**, 26, 635-647.
81. Li J. Name Reactions. A collection of Detailed Reaction Mechanisms. Ed. Springer, 2nd edition **2003**, 362.
82. Supplementary data. Supplementary Material for Organic and Biomolecular Chemistry. **2003**, 1-16.
83. Woodman E., Chaffey J., Hopes P., Hose R., Gilday J. *N,N'*-Carbonyldiimidazole-Mediated Amide Coupling: Significant Rate Enhancement Achieved By Acid Catalysis with Imidazole-HCl. *Org. Proc. Res. Dev.* **2009**, 13, 106-113.
84. Larrivé-e-Aboussafy C. Jones B., Price K., Hardink M., McLaughlin R., Lillie B., Hawkins J., Vaidyanathan R. DBU Catalysis of *N,N'*-Carbonyldiimidazole-Mediated Amidations. *Org Lett.* **2010**, 12, 324-327.
85. Shieh W., Dell S. and Repic O. Nucleophilic Catalysis with 1,8-Diazabicyclo[5.4.0]undec-7-ene (DBU) for the Esterification of Carboxylic Acids with Dimethyl Carbonate. *J. Org. Chem.* **2002**, 67, 2188-2191.
86. Price K., Larrivé-e-Aboussafy C., Lillie B., McLaughlin R., Mustakis J., Hettenbach K., Hawkins J. and Vaidyanathan R. Mild and Efficient DBU-Catalyzed Amidation of Cyanoacetates. *Org. Lett.* **2009**, 11, 2003-2006.

87. Vogel H. Drug discovery and evaluation: pharmacological assays 3er ed., 2008, Springer Germany, 1103-1106.
88. Sugishita E., Amagaya S., Ogihara, Y., Anti-inflammatory testing methods: comparative evaluation of mice and rats *J. Pharm. Dynamic.* **1981**, 4, 565-567.
89. Vogel A.I. Practical Organic Chemistry. Ed. Prentice Hall, 5th. ed. **1996**, 584.
90. Qiu X., Liu Z., Shao W. Liu X., Jing D., Yu Y., An L., Huang S., Bu. X., Gu L. Synthesis and evaluation of curcumin analogues as potential thioredoxin reductase inhibitors. *Bioorg. Med. Chem.* **2008** 16, 8035-8041
91. Winter C., Risley E., Nuss, G. Carrageenin induced edema in hind paw of the rat as an assay for anti-inflammatory drugs, *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.* **1962**; 111, 544-547.
92. NORMA Oficial Mexicana **NOM-062-ZOO-1999**, Especificaciones técnicas para la producción, cuidado y uso de los animales de laboratorio.
93. Committee for Research and Ethical Issues of the International Association for the Study of Pain: Ethical standards for investigation of experimental pain in animals. *Pain.* **1980**, 9, 141-143.
94. Covino B., Dubner R., Gybels J. Ethical standards for investigations of experimental pain in animals. *Pain.* **1980**, 9, 141-143.
95. Zimmermann M. Ethical guidelines for investigations of experimental pain in conscious animals. *Pain.* **1983**, 16, 109-110.
96. Teeling J., Cunningham C., Newman T., Perry V. The effect of non-steroidal anti-inflammatory agents on behavioural changes and cytokine production following systemic inflammation: Implications for role of COX-1. *Brain, Behavior, and Immunity*, **2009**; 24, 409-419.

97. González M., Ospina L., Calle J., Rincón J. Evaluación de extractos y fracciones de plantas colombianas en modelos de inflamación aguda, subcrónica y crónica. *Rev. Colomb. Cienc. Quím. Farm.* **2007**, *36*, 166-174.

– 98. Coumbarides G., Dingjan M., Eames J., Flinn A., Northen J. An efficient laboratory synthesis of  $\alpha$ -deuteriated profens. *J Label Compd Radiopharm.* **2006**, *49*, 903–914.

99. Jian F. and Zai L. Phenolic and Enolic Hydroxyl Groups in Curcumin: Which Plays the Major Role in Scavenging Radicals? *J. Agric. Food Chem.* **2009**, *57*, 11041–11046.

100. Berger S., Sicker D. Dyestuffs and Coloured Compounds in Classics in Spectroscopy: Isolation and Structure Elucidation of Natural Products. Ed. WILEY-VCH, **2009**, 207-209.

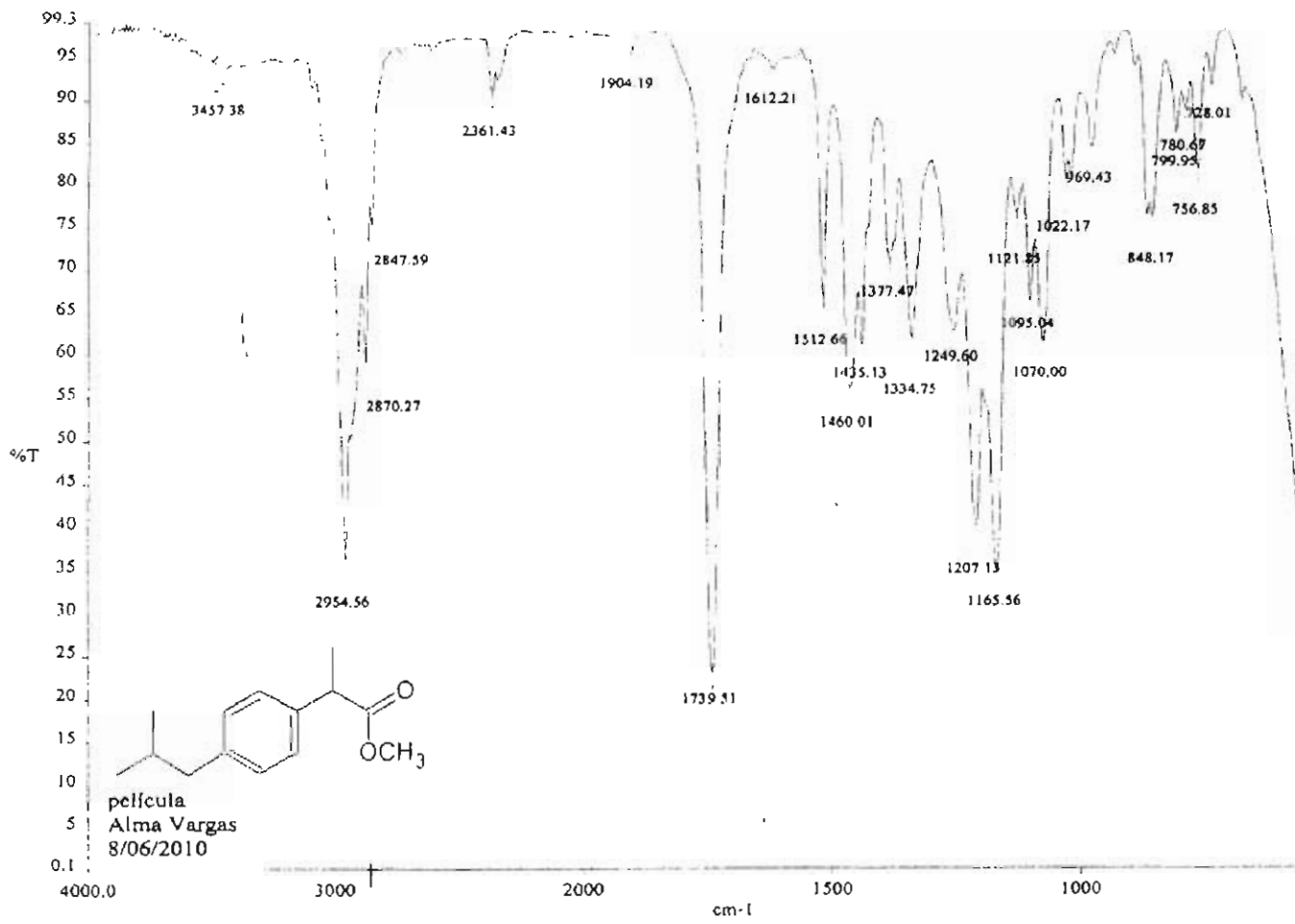
– 101. Hay AD., Redmon N. and Fletcher M. Antipyretic drugs for children. *Brit Med J.* **2006**, *333*, 4-5.

102. Kokki H. and Kokki, M. Ketoprofen versus Paracetamol (Acetaminophen) or Ibuprofen in the Management of Fever. *Clin Drug Investig.* **2010**, *30*, 375-386.

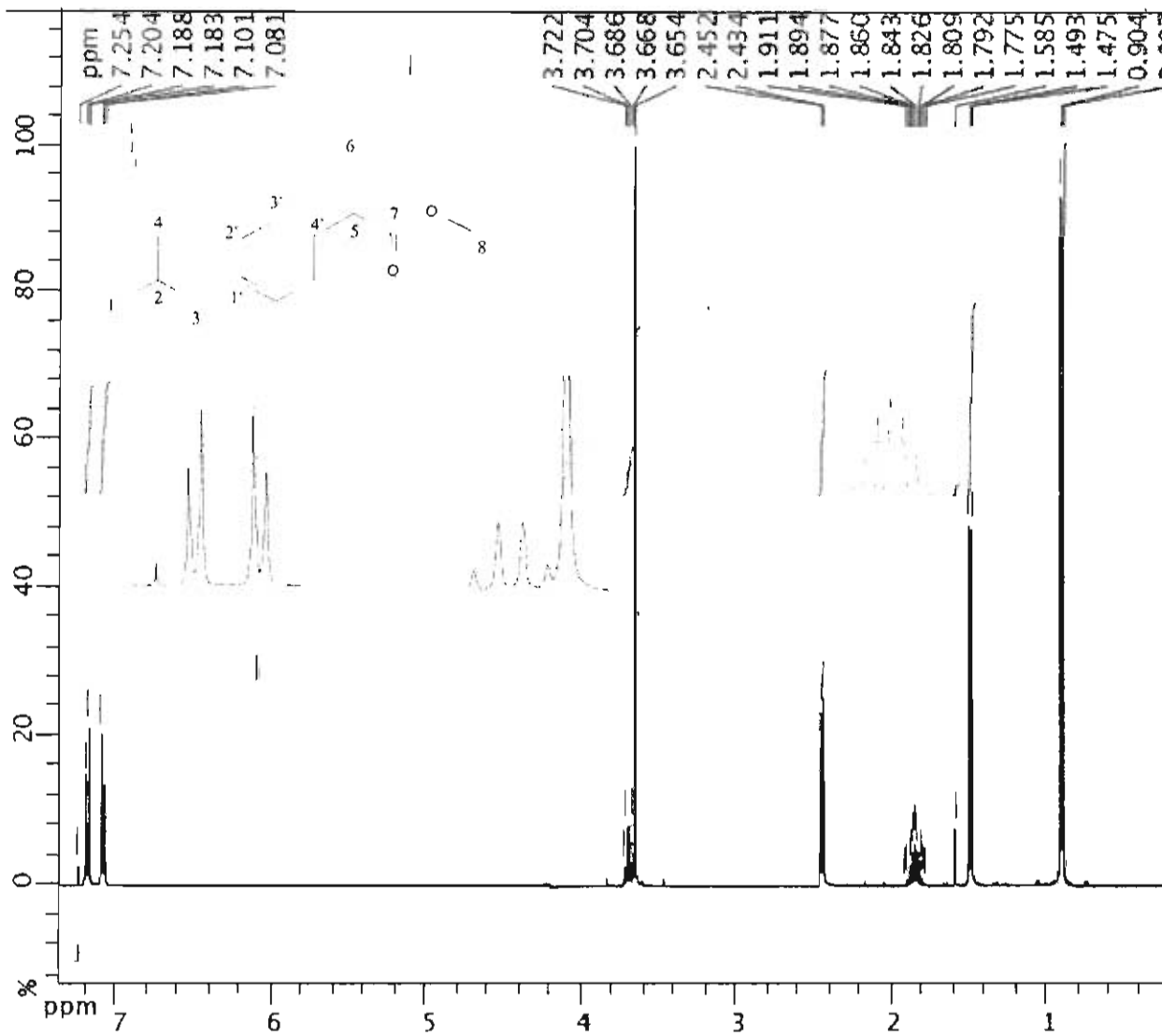
103. Southworth S., Peters J., Rock A. and Pavliv L. A Multicenter, randomized, double-Blind, Placebo- Controlled Trial of Intravenous Ibuprofen 400 and 800 mg every 6 hours in the Manangment of Postoperative Pain. *Clin Therap.* **2009**, *31*, 1922-1935.

# 11. ANEXOS

## 11.1 Espectroscopia de 5

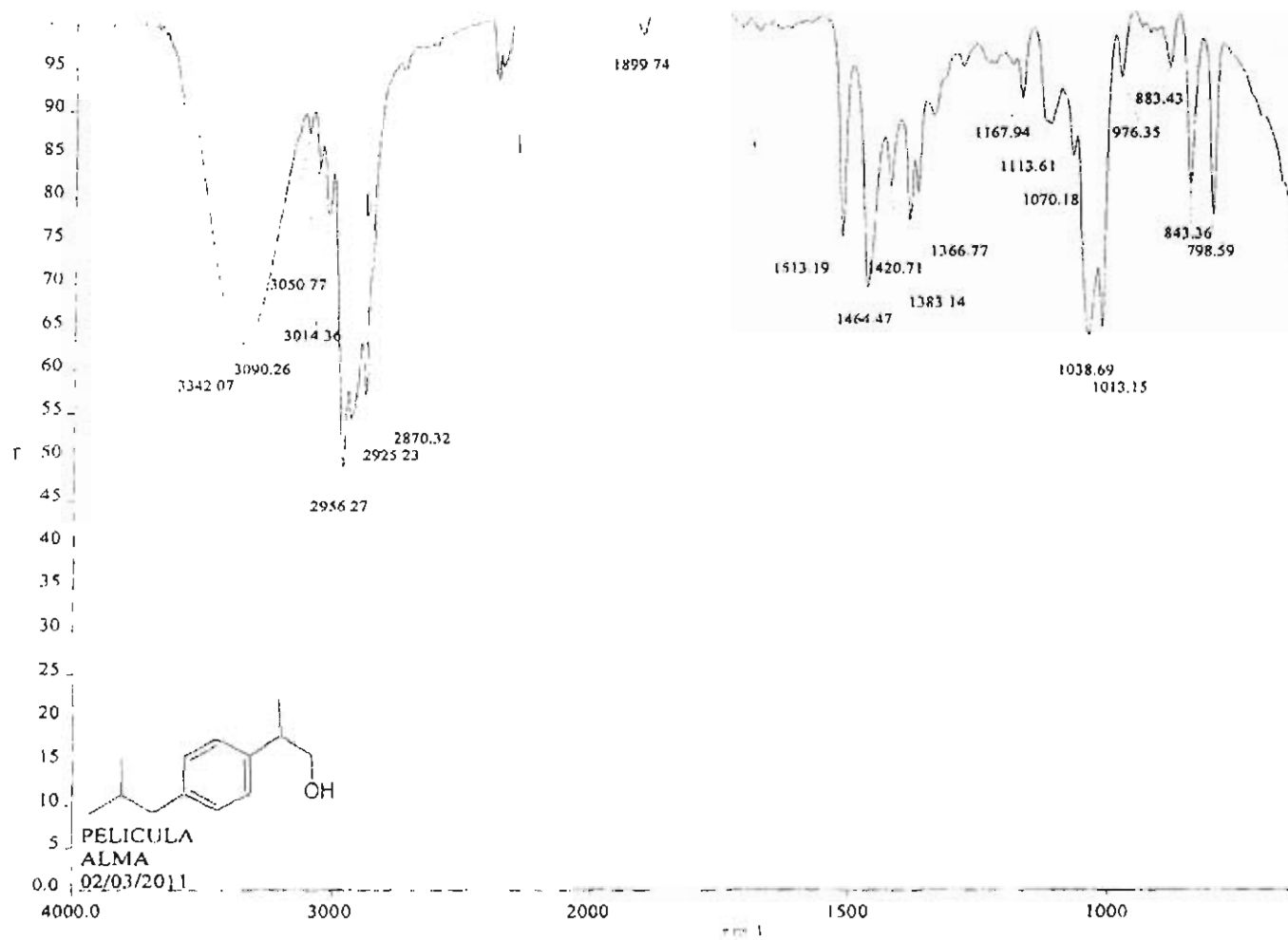


Espectro 1. IR de 5

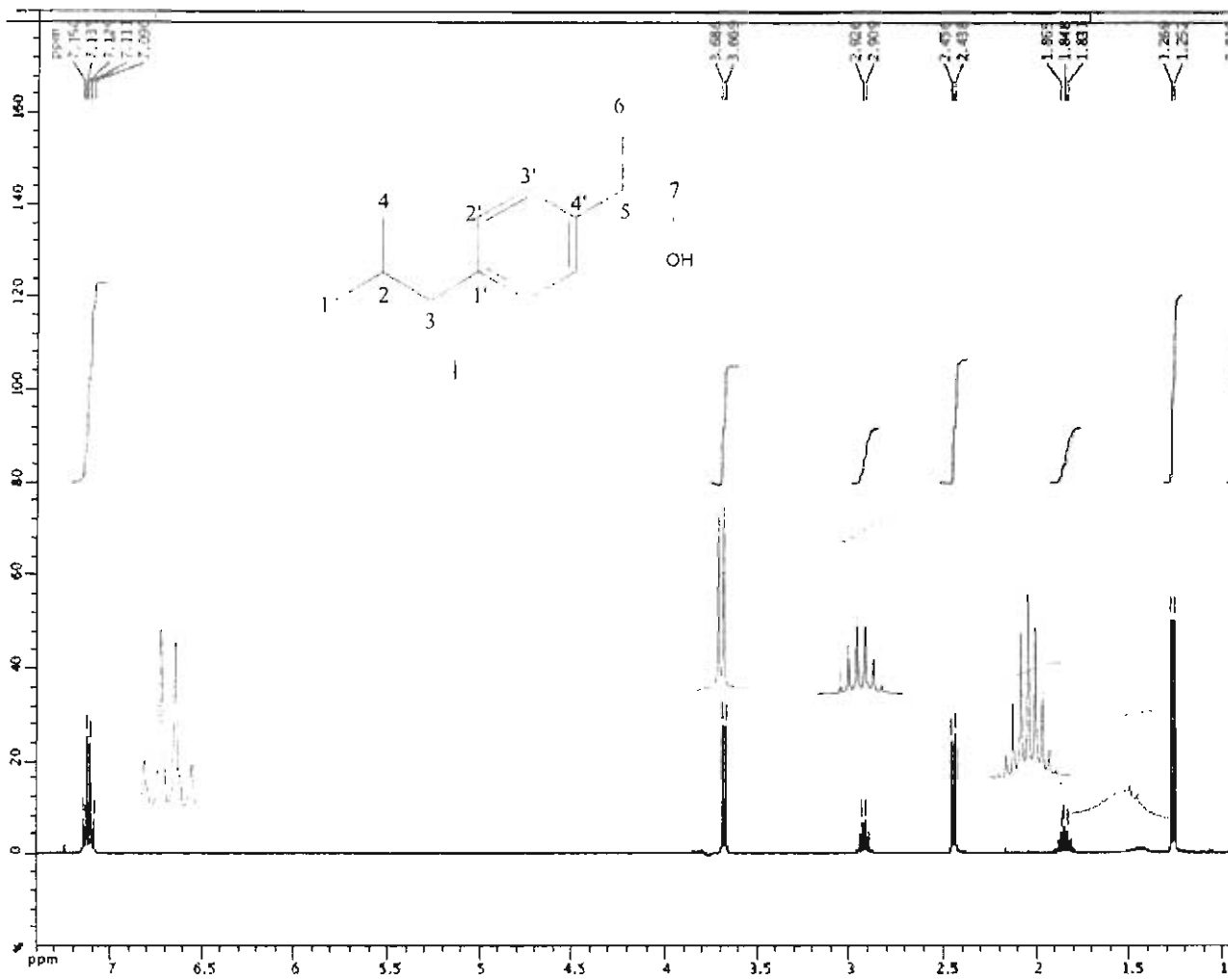


Espectro 2. RMN <sup>1</sup>H de 5

## 11.2 Espectroscopia de 6



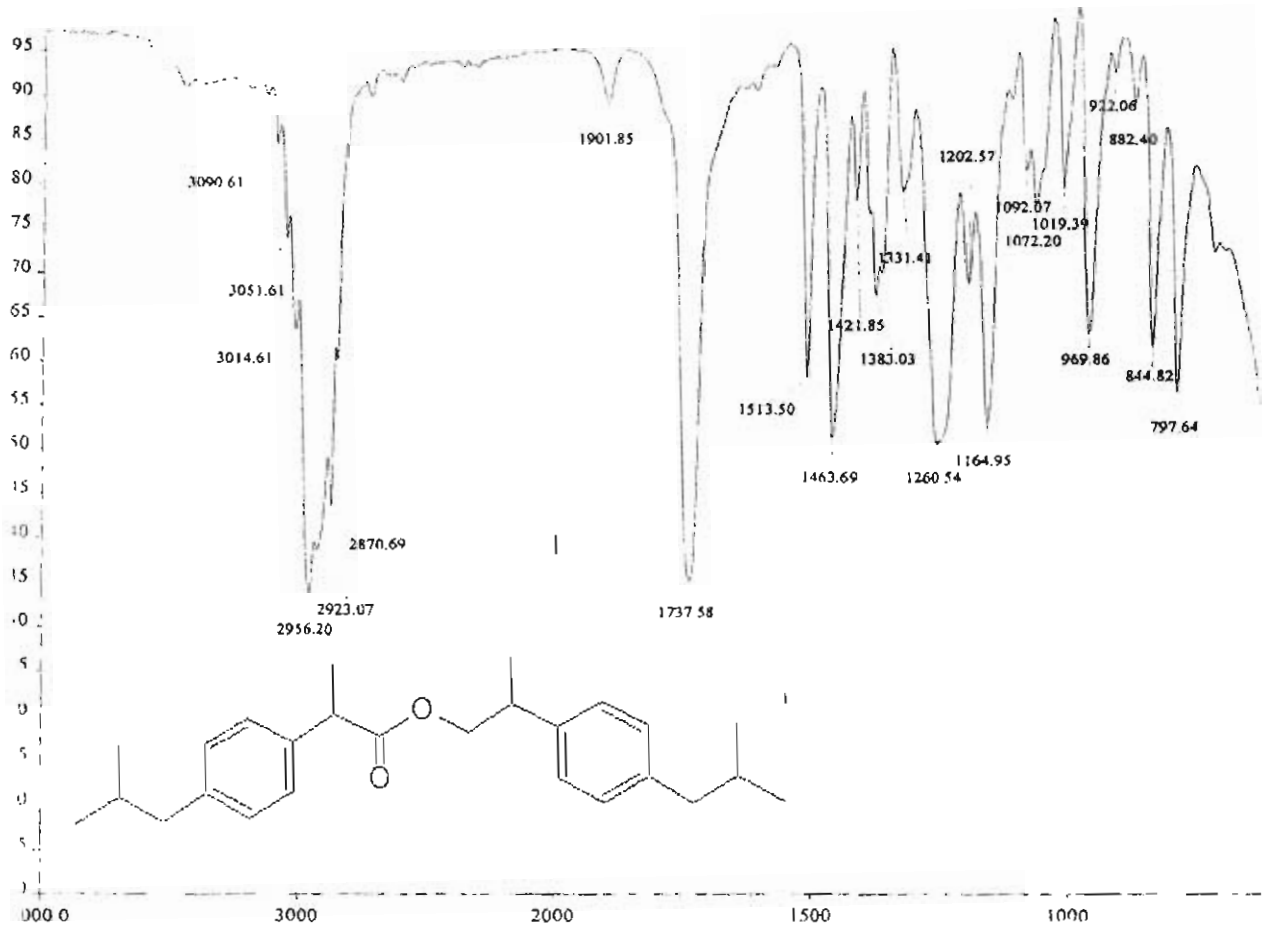
Espectro 3. IR de 6



Espectro 4. RMN  $^1\text{H}$  de 6

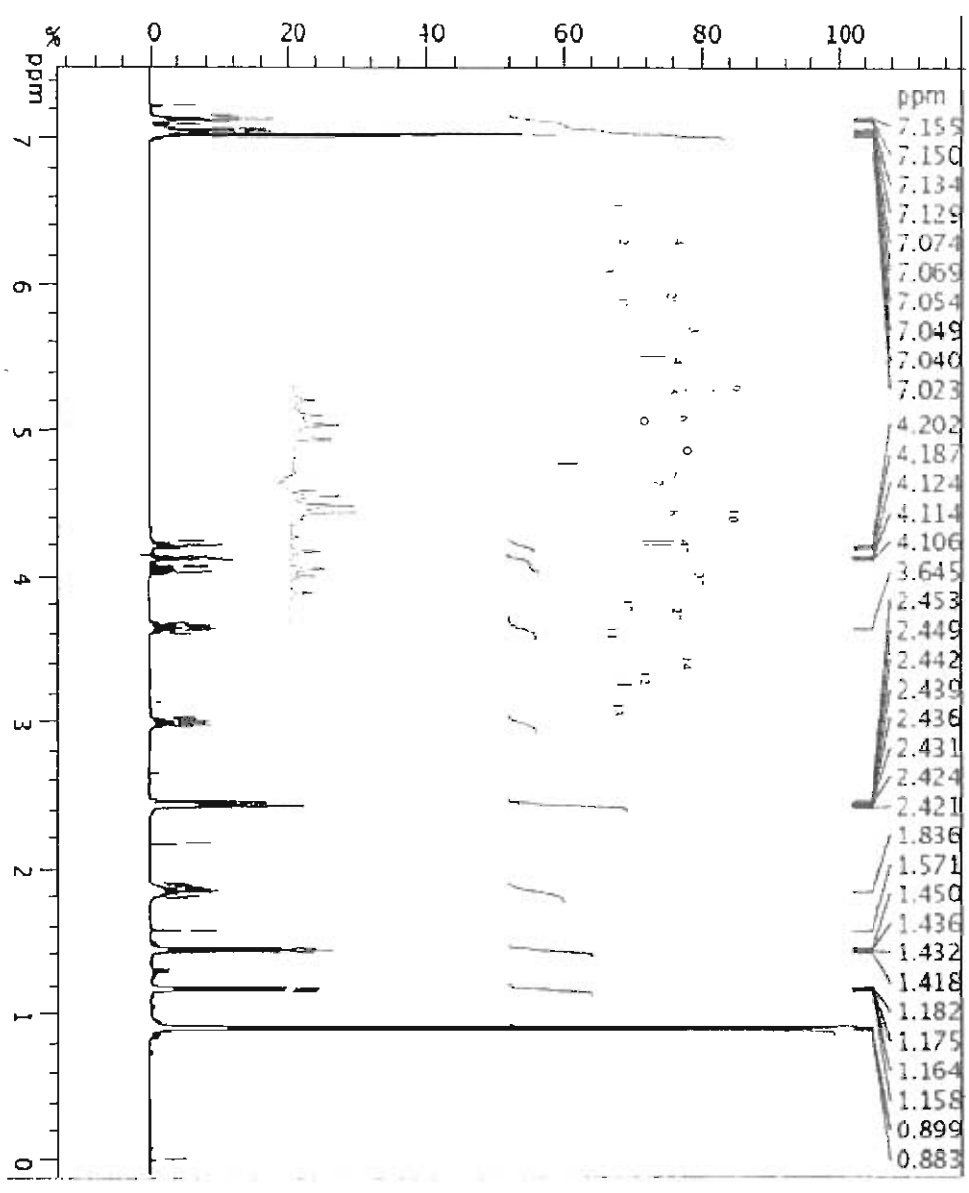


### 11.3 Espectroscopia de 3

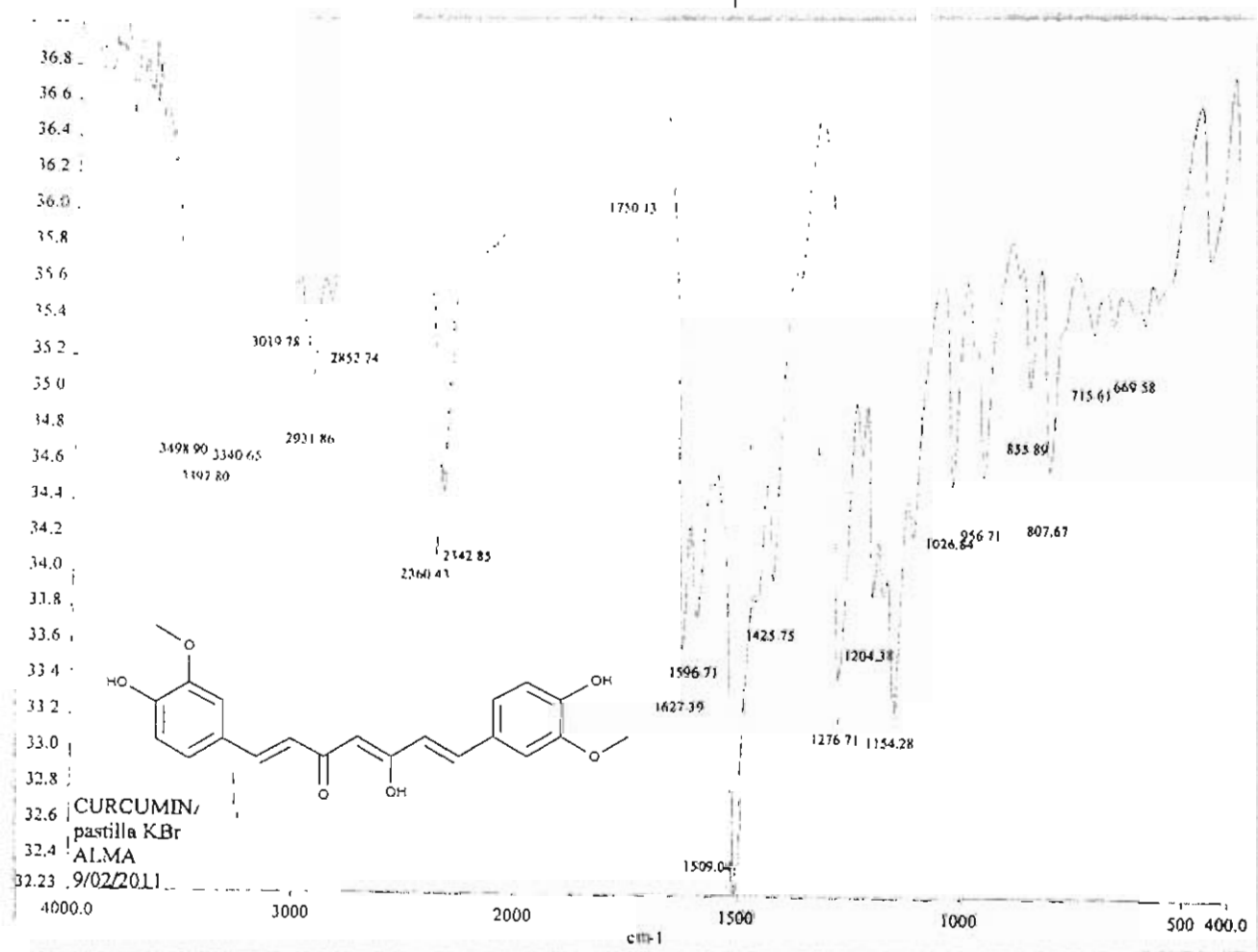


Espectro 5. IR de 3

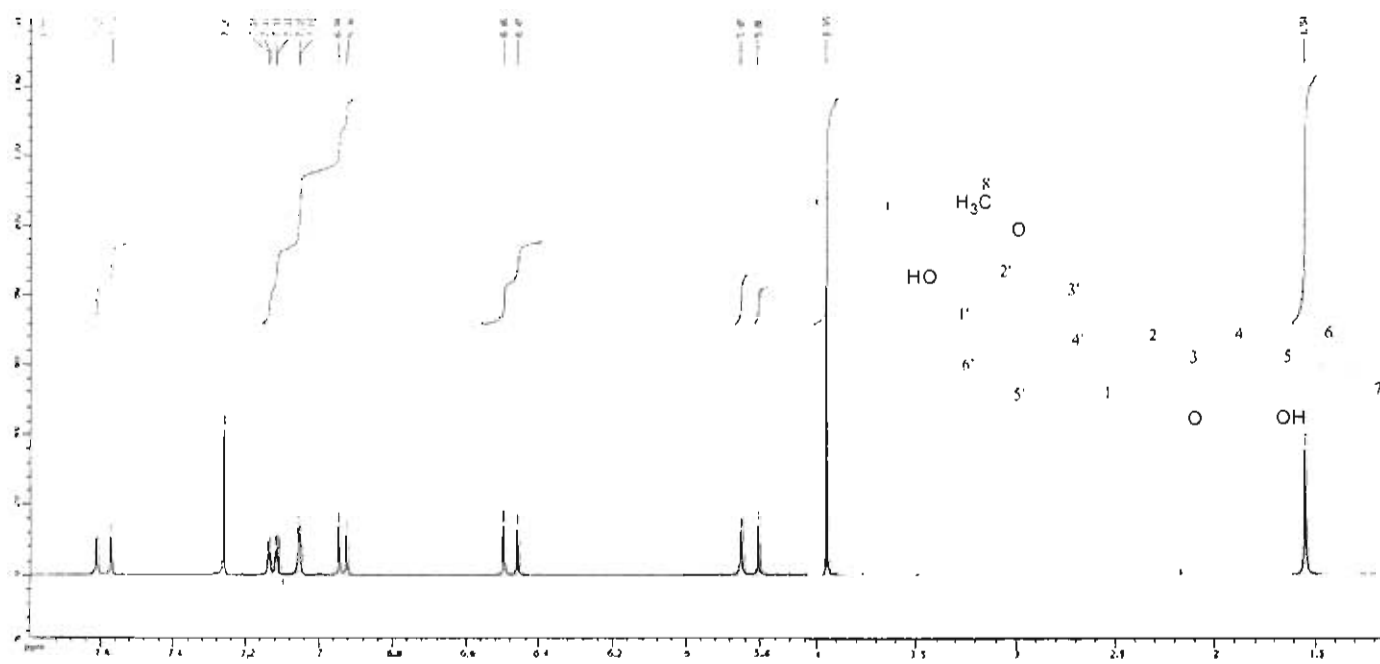
Espectro 6. RMN <sup>1</sup>H de 3



## 11.4 Espectroscopia de 2

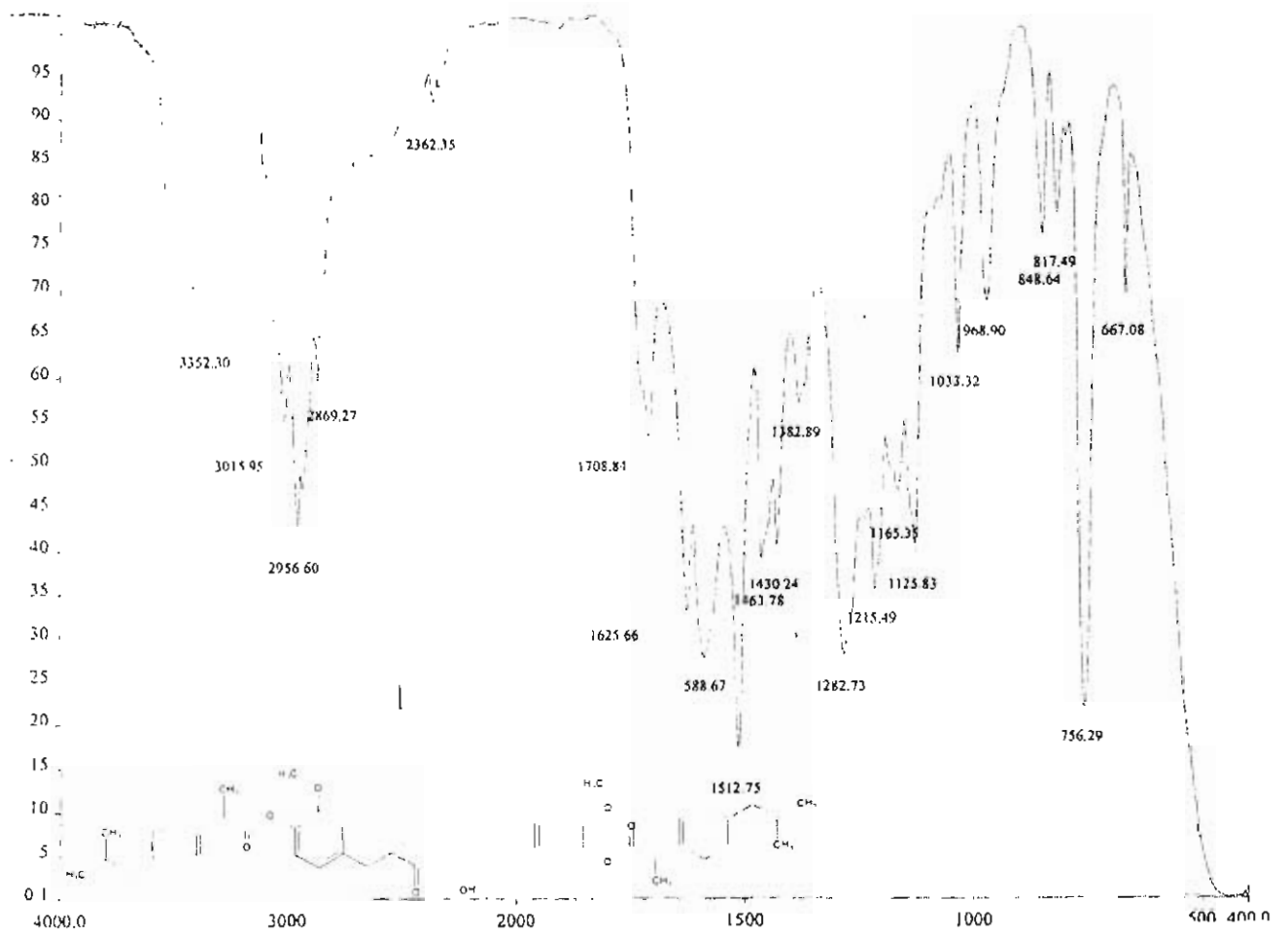


Espectro 7. IR de 2



Espectro 8. RMN <sup>1</sup>H de 2

## 11.5 Espectroscopia de IR de 4



Espectro 9. IR de 4