

REPORTE FINAL PROYECTO DE SERVICIO SOCIAL

Nombre: Erick Alejandro Mejía Covarrubias Licenciatura: Química
Farmacéutica Biológica

Nombre del Asesor Interno: Cuauhtémoc Pérez González

Nombre del Asesor Interno 2: Carlos Alberto Méndez Cuesta

Nombre del Proyecto: Síntesis de calixarenos con núcleo de tiofeno
con potencial actividad antiinflamatoria y anticancerígena

Fecha de Inicio: 13/05/22

Fecha de Conclusión: 13/11/22



INTRODUCCIÓN.

En este trabajo se presentan las actividades realizadas en el servicio social donde llevó a cabo la síntesis de compuestos tipo calixarenos, mediante la reacción de tiofeno con diferentes 4 aldehídos y cetonas para obtener calix[4]tiofenos con diversos patrones de sustitución. Se lograron obtener 2 compuestos propuestos con alta pureza. Todos los compuestos se caracterizaron por medio de Resonancia Magnética Nuclear de ^1H y ^{13}C , con la finalidad de ser evaluados *in vitro* sobre diversas líneas celulares, así como determinar su actividad antiinflamatoria.

MARCO TEÓRICO

• CALIXARENOS

Los calixarenos son una familia de compuestos macrocíclicos con un número variable de unidades, formadas por la condensación de un compuesto aromático con diferentes aldehídos, generalmente en presencia de algún ácido de Lewis. El número de unidades de compuestos aromáticos puede variar entre 4 y 20 unidades, a su vez estos se dividen en 2 grandes grupos de acuerdo con donde se encuentran sustituidos (β y meso). Un tipo de heterocalixarenos que ha llamado la atención, debido a su amplia distribución en la naturaleza son las porfirinas. Estos compuestos presentan dos posibilidades de sustitución. Las porfirinas β -sustituidas normalmente se encuentran en estructuras provenientes de la naturaleza, tienen un parecido estructural con aquellas de origen biológico, mientras que las meso sustituidas no tienen análogos biológicos, por lo que solo son accesibles por medios sintéticos (Figura 1).

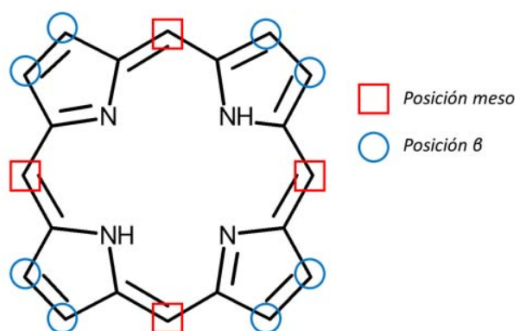


Figura 1. Estructura general de porfirina con las posiciones disponibles para añadir cadenas

Los calix[n]arenos son similares a la de otros macrociclos, ya que la cavidad del macrociclo dependerá del número de unidades aromáticas en el sistema. Estos compuestos tienen una cavidad tridimensional que puede acomodar diversas moléculas durante un proceso llamado complejación, a través de interacciones no covalentes, algunas de estas interacciones son enlaces por puente de hidrógeno, interacciones de catión, anión, etc. Esta capacidad genera un interés en métodos de aplicaciones biológicas. Sin embargo, también poseen potencial para actuar como moléculas bioactivas directas. Debido a las diferentes formas isoméricas conformacionales que adquieren, les permite tener diferentes usos y aplicaciones. Por ejemplo, los calix[n]arenos pueden adoptar varias conformaciones diferentes, incluido el cono, el cono parcial, 1,2-alternado y 1,3-alternado, estas conformaciones son

fáciles de identificar por medio de la RMN de ^1H y ^{13}C debido a que los grupos metilos presentan diferentes desplazamientos químicos en tres de las cuatro conformaciones (Gutsche 1983) (Figura 2).

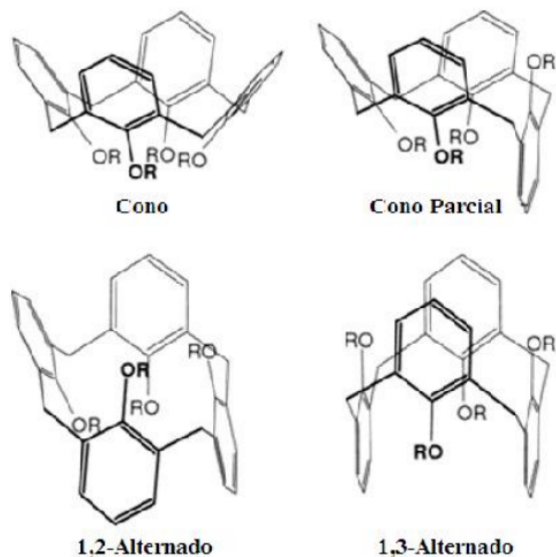


Figura 2: Diferentes conformaciones que pueden tener los calixarenos

- SÍNTESIS DE CALIXARENOS

- Alder-Longo

Este procedimiento implica la adición de cantidades equimolares de pirrol y aldehído en un medio ácido y llevarlo a ebullición (Alder 1967) (Figura 3)

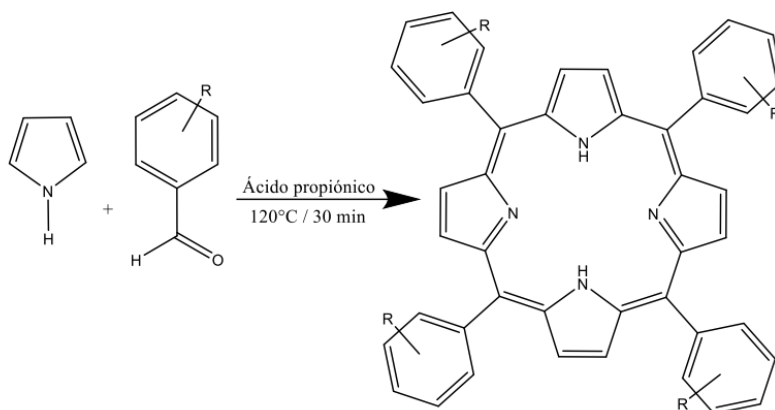


Figura 3: Síntesis de Alder-Longo

- Lindsey

Es una reacción de dos etapas, en la primera etapa reacciona pirrol y algún aldehído, en presencia de un catalizador tipo ácido de Lewis como TFA (Ácido trifluoroacético) o BF_3 (Trifluoruro de boro) a temperatura ambiente en ausencia de oxígeno para evitar una oxidación. El producto obtenido del primer paso es un porfirinógeno. En el

segundo paso de la reacción, el porfirinógeno se oxida a porfirina mediante el uso de un agente oxidante (DDQ (2,3-dicloro-5,6-diciano-1,4-benzoquinona)), (Lindsey 1987) (Figura 4)

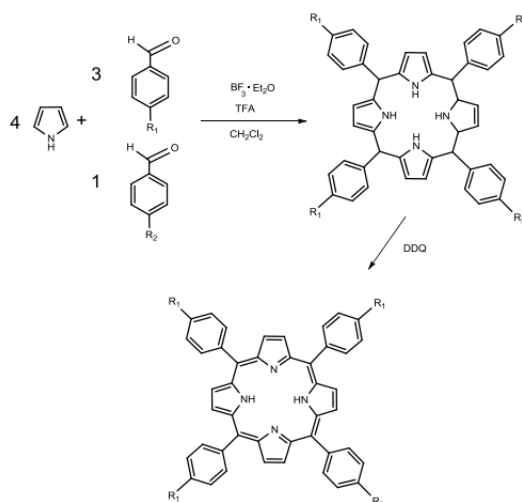


Figura 4: Síntesis de Lindsey

-MacDonald

Este método de condensación 2+2 es una estrategia útil para preparar porfirinas asimétricas. En esta ruta el 1,9-diformildipirrometano se condensa con un 1,9-dipirrometano no sustituido o su ácido 1,9-dicarboxílico en presencia de un catalizador ácido (Montierth 2000) (Figura 5)

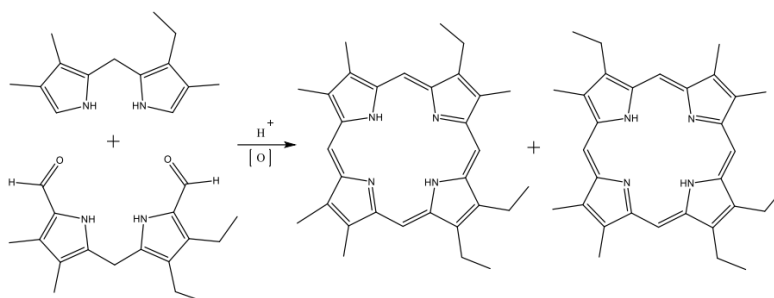


Figura 5: Síntesis de MacDonald

● ACTIVIDADES BIOLÓGICAS

Estos compuestos han mostrado diversas actividades farmacológicas la cual ha sido reportada en diferentes publicaciones

- **Antibacteriana:** El trifluoroacetato de tetra-*p*-guanidinoetilcalixareno es activo frente a varias bacterias Gram positivas y Gram negativas, demostrando a su vez toxicidad nula (Sautrey 2011).
- **Antifúngica:** La presentan Calixarenos funcionalizados incorporando derivados de isoniazida con heterociclos de 1,3,4-tiadiazol y 1,3,4-oxadiazol, reportó actividad antifúngica en cepas de *C. albicans* y *A. clavatus* (Soares 2014)
- **Antiviral:** El C-5-Bromo-2-hidroxifenilcalix[4]-2-metilresorcinareno tiene actividad antiviral frente al Virus del herpes simple tipo 1 (Abosadiya 2013).

- Anticancerígena: Los calixarenos derivados de polihidroxiamina poseen efectos antitumorales significativos sobre las líneas celulares A549 (cáncer pulmonar), SKOV3 (cáncer de ovario) y otros tumores cancerosos (An 2021).

CÁNCER

La Organización Mundial de la Salud (OMS), define al cáncer como el término genérico dado a un grupo de más de 100 enfermedades que pueden afectar cualquier parte del organismo. La principal característica del cáncer es el crecimiento descontrolado de células anormales que pueden invadir tejidos y diseminarse a varios órganos a través del torrente sanguíneo o del sistema linfático dando lugar a la metástasis.

INFLAMACIÓN

La inflamación es una respuesta de los organismos a diferentes agresiones endógenas o exógenas. Tanto la respuesta inmune innata como la adquirida intervienen en este proceso que tiene numerosos efectos locales y sistémicos. Según el tiempo de evolución puede ser aguda o crónica, aunque a veces los patrones convencionales no pueden detectar un suceso previo.

Se caracteriza por cinco signos clínicos: rubor, calor, dolor, tumor e impotencia funcional. Estas manifestaciones cardinales son causadas por la acumulación de leucocitos, proteínas plasmáticas y derivados de la sangre hacia sitios de los tejidos extravasculares donde existe una infección o lesión, provocada o no por agentes patógenos (Gonzales 2019).

HIPÓTESIS.

Los Calix de tiofeno podrán sintetizarse de forma similar al de los pirroles con buenos rendimientos y buena pureza, además, presentarán actividades biológicas como citotoxicidad y efecto antiinflamatorio.

OBJETIVOS:

• GENERAL.

Sintetizar y evaluar la actividad biológica de los calixarenos con tiofeno

• ESPECÍFICOS.

-Sintetizar, aislar y purificar los calixarenos con tiofeno.

-Caracterizar estos derivados empleando Resonancia Magnética Nuclear de ^1H y ^{13}C .

-Realizar estudios de acoplamiento molecular con los calixarenos de tiofeno para predecir los sitios de unión a diversos blancos terapéuticos.

MATERIAL.

• REACTIVOS (marca Sigma-Aldrich)

-Tiofeno

-Perclorato de litio

-4-nitrobenzaldehído

-benzaldehído

-3-clorobenzaldehído

-4-fluorobenzaldehído

-3-4-dimetoxibenzaldehído

• Disolventes (marca J:T.Baker grado tecnico)

-Etanol

-Metanol

-Cloroformo

-Hexano

-Acetato de etilo

-Ácido clorhídrico

• Equipo

-Placas de vidrio recubiertas con gel de sílice marca Sigma-Aldrich

-Lámpara de luz ultravioleta UVGL-55 Handheld UV Lamp, 254/365nm UV/115-60Hz

-Aparato de fusión Fisher-Johns

-Parrillas con agitación magnética y calentamiento marca IKA

-Evaporador rotatorio marca Büchi

-Agilent 600 MHz modelo DD2 con una sonda OneNMR.

METODOLOGÍA.

Se empleó la metodología de Adler-Longo con algunas modificaciones y empleando diversos aldehídos, como se indica en la (Figura 6).

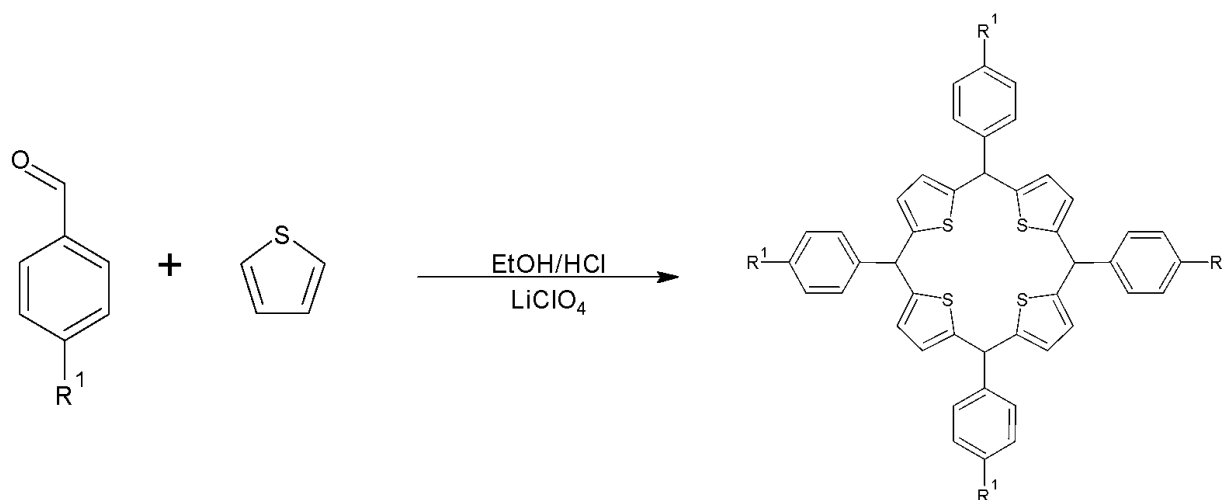


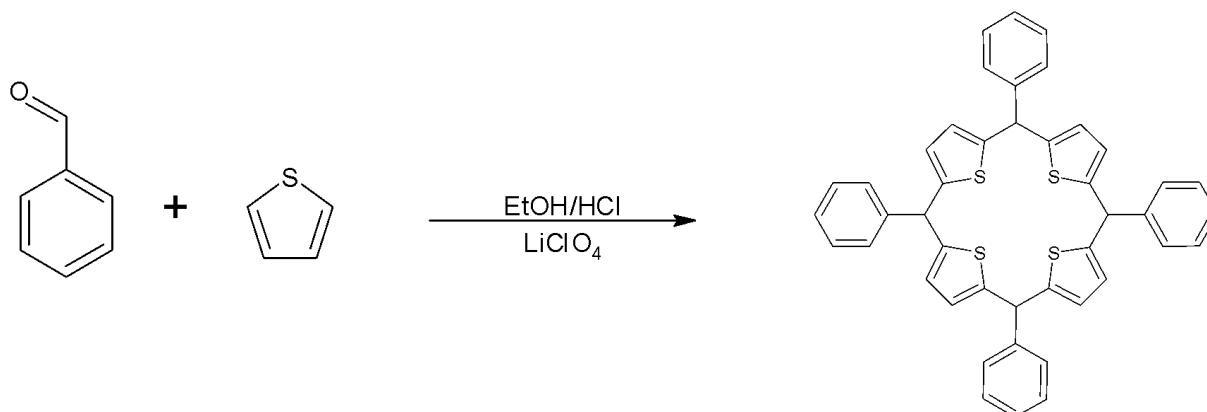
Figura 6: $R^1 = H, F, Cl, NO_2, OCH_3$

En un matraz bola de 250 mL acondicionado con condensador en posición de reflujo se colocaron 0.05 moles del aldehído, 0.5 g de $LiClO_4$ y 100 mL de una solución de etanol con HCl. Con agitación constante se le agregaron 250 μ L de tiofeno cada 5 minutos un volumen de 4 mL (0.05 moles) de tiofeno y se calentó la reacción a 70 °C por 72 horas. Se monitoreo la reacción por medio de Cromatografía en Capa Fina (CCF) empleando como fase móvil Hexano/Acetato de etilo (8:2) y Cloroformo/Metanol (9:1). Al término del tiempo de reacción, la mezcla fue tratada con 20 mL de agua y se le realizaron 3 extracciones con 20 mL de cloroformo cada uno. Posteriormente la fase orgánica se lavó con 30 mL de una solución de bicarbonato de sodio saturado y posteriormente con 30 mL de salmuera. La fase orgánica fue secada con sulfato de sodio anhidro y se concentró en rotavapor hasta eliminar todo el disolvente.

Cada uno de los compuestos obtenidos fue analizado por Resonancia Magnética Nuclear de 1H y ^{13}C .

RESULTADOS

Síntesis de (2,4,6,8-tetrafenil-1,3,5,7(2,5)-tetratiofenaciclooctafano)

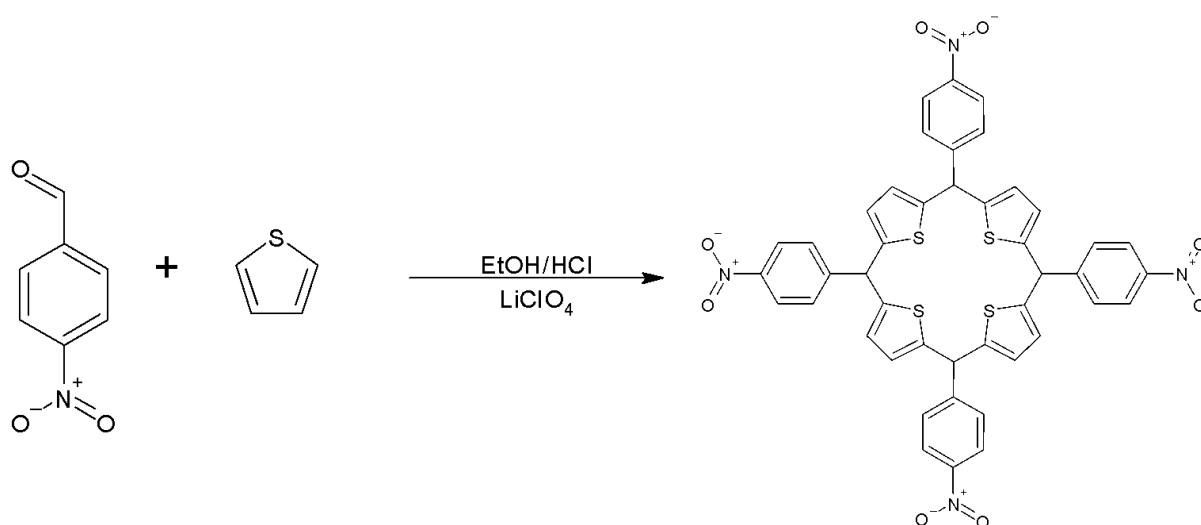


En un matraz bola de 250 mL acondicionado con condensador en posición de reflujo se colocaron 5.5 mL de benzaldehído (0.05 moles), 0.5 g de $LiClO_4$ y 100 mL de una solución de etanol con HCl a una concentración de 8%. Con agitación constante se le agregaron 250 μ L de tiofeno cada 5 minutos un volumen de 8 mL (0.1 moles) de tiofeno y se calentó la reacción a 70 °C por 72 horas. Se monitoreo la reacción por medio de Cromatografía en Capa Fina (CCF) empleando como fase móvil Hexano/Acetato de etilo (8:2) y Cloroformo/Metanol (9:1). Al término del tiempo de reacción, la mezcla fue tratada con 20 mL de agua y se le realizaron 3 extracciones con 20 mL de cloroformo cada uno. Posteriormente la fase orgánica se lavó con 30 mL de una solución de bicarbonato de sodio saturado y posteriormente con 30 mL de salmuera. La fase orgánica fue secada con sulfato de sodio anhidro y se concentró en evaporador rotatorio hasta eliminar todo el disolvente.

Se obtuvo una resina de color morado oscuro, la cual después se disolvió en 50 mL de metanol para poder tratarlo con 0.38 g (0.1 moles) de boro hidruro de sodio como

agente reductor de aldehídos, se calentó a 80°C por 3 horas con agitación, posterior se le trató, agregando 20 mL de agua y se le realizaron 3 extracciones con 20 mL de cloroformo. La fase orgánica fue secada con sulfato de sodio anhidro y se concentró en evaporador rotatorio hasta eliminar todo el disolvente. Se obtuvo una resina café rojiza, que al comparar las 2 resinas en CCF, se observó que en la segunda desapareció la mancha de la materia prima, pero aún continuaban saliendo impura, por lo que se buscarán métodos de purificación.

Síntesis de (2,4,6,8-tetrakis(4-nitrofenil)-1,3,5,7(2,5)-tetratiofenaciclooctafano)



En un matraz bola de 250 mL acondicionado con condensador en posición de reflujo se colocaron 7.5 g de 4-nitrobenzaldehído(0.05 moles), 0.5 g de LiClO₄ y 100 mL de una solución de etanol con HC a una concentración de 10%. Con agitación constante se le agregaron 250 µL de tiofeno cada 5 minutos un volumen de 8 mL (0.1 moles) de tiofeno y se calentó la reacción a 50 °C por 72 horas. Se monitoreo la reacción por medio de Cromatografía en Capa Fina (CCF) empleando como fase móvil Hexano/Acetato de etilo (8:2) y Cloroformo/Metanol (9:1). Al término del tiempo de reacción, la mezcla fue tratada con 20 mL de agua y se le realizaron 3 extracciones con 20 mL de cloroformo cada uno. Posteriormente la fase orgánica se lavó con 30 mL de una solución de bicarbonato de sodio saturado y posteriormente con 30 mL de salmuera. La fase orgánica fue secada con sulfato de sodio anhidro y se concentró en evaporador rotatorio hasta eliminar todo el disolvente.

Se obtuvo un líquido de color amarillo claro, el cual después de hacerle pruebas de solubilidad se le hizo una purificación por medio de cromatografía columna con una fase móvil de hexano, aumentando en un 5% el AcOEt cada 100 mL hasta llegar al 100% de AcOEt. Se obtuvo un líquido amarillo cristalino el cual fue enviado a RMN para corroborar la estructura(Figura 5).

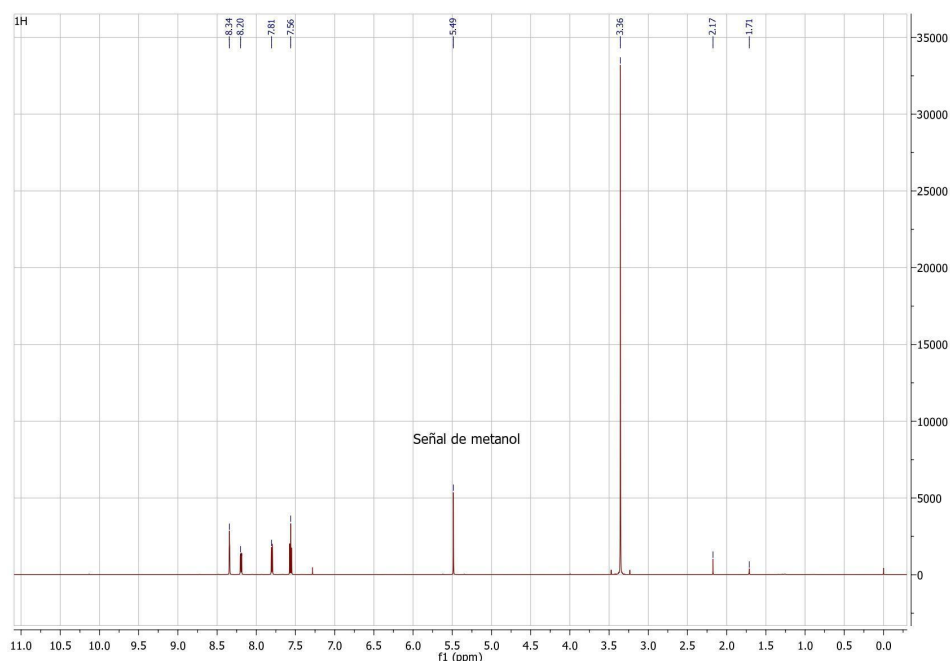
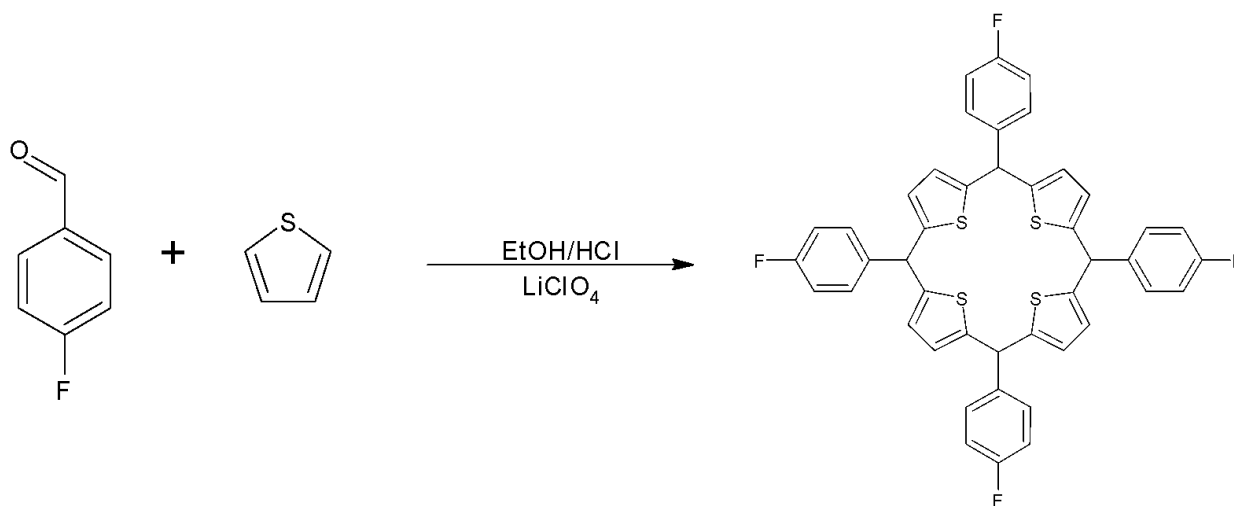


Figura 5: RMN del 2,4,6,8-tetrakis(4-nitrofenil)-1,3,5,7(2,5)-tetratiofenaciclooctafano

Síntesis de (2,4,6,8-tetrakis(4-fluorofenil)-1,3,5,7(2,5)-tetratiofenaciclooctafano)

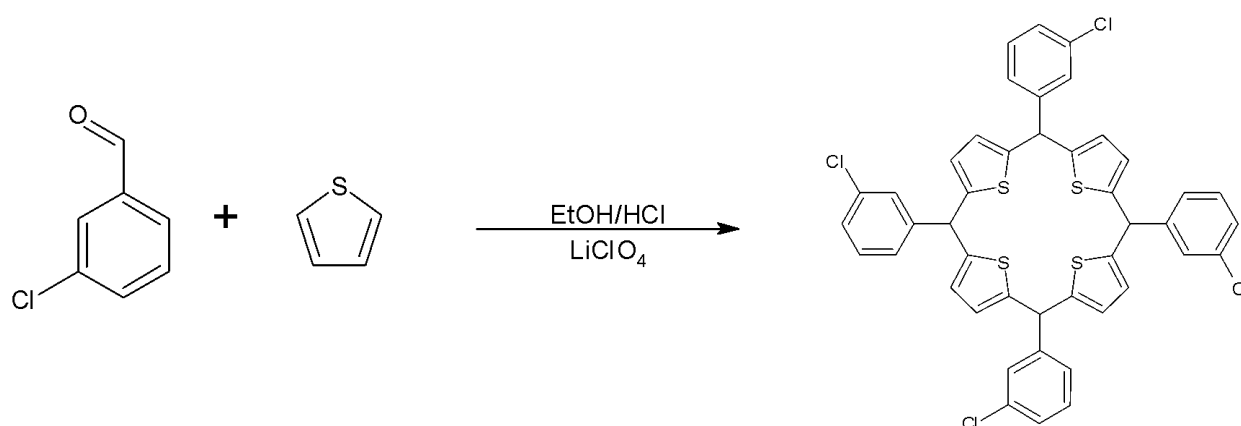


En un matraz bola de 250 mL acondicionado con condensador en posición de reflujo se colocaron 5 mL de 4-fluorobenzaldehído(0.05 moles), 0.5 g de LiClO_4 y 100 mL de una solución de etanol con HC a una concentración de 10%. Con agitación constante se le agregaron 250 μL de tiofeno cada 5 minutos un volumen de 8 mL (0.1 moles) de tiofeno y se calentó la reacción a 50 °C por 162 horas. Se monitoreo la reacción por medio de Cromatografía en Capa Fina (CCF) empleando como fase móvil Hexano/Acetato de etilo (8:2) y Cloroformo/Metanol (9:1). Al término del tiempo de reacción, la mezcla fue tratada con 20 mL de agua y se le realizaron 3 extracciones con 20 mL de cloroformo cada uno. Posteriormente la fase orgánica se lavó con 30 mL de una solución de bicarbonato de sodio saturado y posteriormente

con 30 mL de salmuera. La fase orgánica fue secada con sulfato sodio anhidro y se concentró en evaporador rotatorio hasta eliminar todo el disolvente.

Se obtuvo un líquido color naranja que presentaba varias impurezas, el cual se trató con diversos disolventes (MeOH, hexano, tolueno, éter con carbón activo) para purificarlo, pero no se logró obtener el compuesto puro, por lo que se debe optimizar la metodología para tener un mejor rendimiento y mayor pureza.

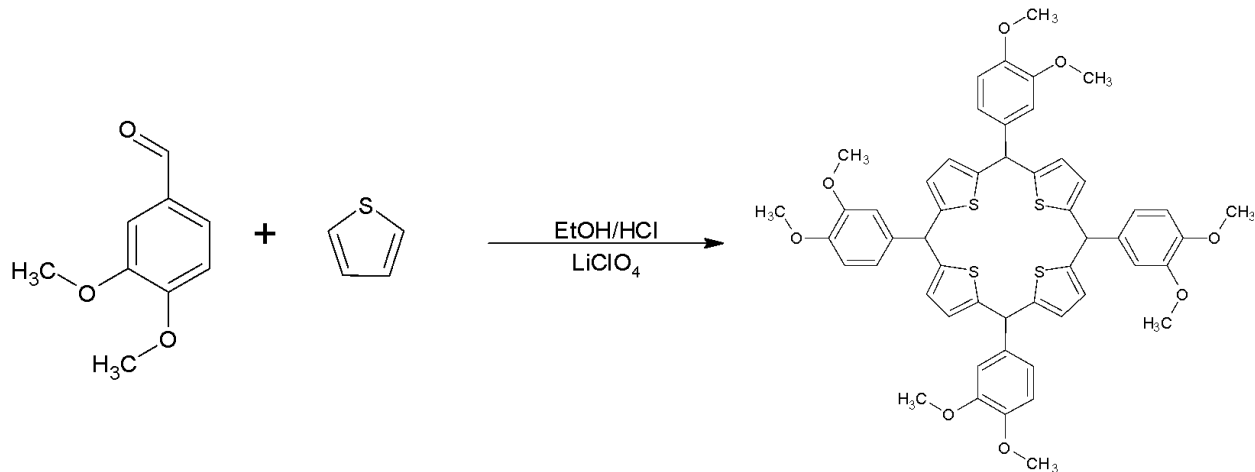
Síntesis de (2,4,6,8-tetrakis(3-clorofenil)-1,3,5,7(2,5)-tetratiofenaclooctafano)



.En un matraz bola de 250 mL acondicionado con condensador en posición de reflujo se colocaron 7 g de 3-clorobenzaldehído(0.05 moles), 0.5 g de LiClO₄ y 100 mL de una solución de etanol con HC a una concentración de 10%. Con agitación constante se le agregaron 250 µL de tiofeno cada 5 minutos un volumen de 8 mL (0.1 moles) de tiofeno y se calentó la reacción a 50 °C por 96 horas. Se monitoreo la reacción por medio de Cromatografía en Capa Fina (CCF) empleando como fase móvil Hexano/Acetato de etilo (8:2) y Cloroformo/Metanol (9:1). Al término del tiempo de reacción, la mezcla fue tratada con 20 mL de agua y se le realizaron 3 extracciones con 20 mL de cloroformo cada uno. Posteriormente la fase orgánica se lavó con 30 mL de una solución de bicarbonato de sodio saturado y posteriormente con 30 mL de salmuera. La fase orgánica fue secada con sulfato sodio anhidro y se concentró en evaporador rotatorio hasta eliminar todo el disolvente.

Se obtuvo una resina de color negra, la cual se lavó con 50 mL de EtOH obteniendo así un polvo de color negro brillante con varias impurezas, al cual se le trato con diversos disolventes (MeOH, hexano, tolueno, éter con carbón activo) para tratar de purificarlo sin tener éxito, por lo que se deben de buscar alternativas para optimizar la metodología para obtener un mejor rendimiento y pureza.

Síntesis **de**
2,4,6,8-tetrakis(3,4-dimetoxifenil)-1,3,5,7(2,5)-tetratiofenaciclooctafano



En un matraz bola de 250 mL acondicionado con condensador en posición de reflujo se colocaron 8.2 g de veratraldehído (0.05 moles), 0.5 g de LiClO₄ y 100 mL de una solución de etanol con HC a una concentración de 10%. Con agitación constante se le agregaron 250 μ L de tiofeno cada 5 minutos un volumen de 8 mL (0.1 moles) de tiofeno y se calentó la reacción a 50 °C por 162 horas. Se monitoreo la reacción por medio de Cromatografía en Capa Fina (CCF) empleando como fase móvil Hexano/Acetato de etilo (8:2) y Cloroformo/Metanol (9:1). Al término del tiempo de reacción, la mezcla fue tratada con 20 mL de agua y se le realizaron 3 extracciones con 20 mL de cloroformo cada uno. Posteriormente la fase orgánica se lavó con 30 mL de una solución de bicarbonato de sodio saturado y posteriormente con 30 mL de salmuera. La fase orgánica fue secada con sulfato sodio anhidro y se concentró en evaporador rotatorio hasta eliminar todo el disolvente.

Se obtuvo una resina color café oscuro, el cual fue lavado con 50 mL de hexano en caliente para poder retirar la materia prima, la resina obtenida se filtró en celita y se le hizo pasar una mezcla de hexano/AcOEt (8:2) para que una de las 2 manchas quedara en la celita, la cual posteriormente se lavó con metanol para poder retirarla de la celita, las 2 manchas fueron enviada a RMN para identificación de la estructura y determinar cuál es el compuesto.

Conclusión

No todos los objetivos se cumplieron debido a varios problemas con la metodología de síntesis y a la selectividad de las reacciones planteadas. Lo que dio como resultado que fueron difíciles de purificar, no se obtuvieron en cantidad suficiente para realizar las pruebas biológicas.

Los intentos de usar sustituyentes más complejos dio como resultado que la reacción no fuera reproducible, por lo que se intentaron diferentes modificaciones al método.

BIBLIOGRAFÍA

- Abosadiya, H. M., Hasbullah, S. A., Mackeen, M. M., Low, S. C., Ibrahim, N., Koketsu, M., & Yamin, B. M. (2013). Synthesis, Characterization, X-ray Structure and Biological Activities of C-5-Bromo-2-hydroxyphenylcalix [4]-2-methyl resorcinarene. *Molecules*, 18(11), 13369-13384.
- Adler, A. D., Longo, F. R., Finarelli, J. D., Goldmacher, J., Assour, J., & Korsakoff, L. (1967). A simplified synthesis for meso-tetraphenylporphine. *The Journal of Organic Chemistry*, 32(2), 476-476.
- An, L., Wang, C., Zheng, Y. G., Liu, J. D., & Huang, T. H. (2021). Design, synthesis and evaluation of calix [4] arene-based carbonyl amide derivatives with antitumor activities. *European Journal of Medicinal Chemistry*, 210, 112984.
- Gutsche, C. D., Dhawan, B., Levine, J. A., No, K. H., & Bauer, L. J. (1983). Calixarenes 9: Conformational isomers of the ethers and esters of calix [4] arenes. *Tetrahedron*, 39(3), 409-426.
- González-Costa, M., & González, A. A. P. (2019). La inflamación desde una perspectiva inmunológica: desafío a la Medicina en el siglo XXI. *Revista Habanera de Ciencias Médicas*, 18(1), 30-44.
- Lindsey, J. S., Schreiman, I. C., Hsu, H. C., Kearney, P. C., & Marguerettaz, A. M. (1987). Rothmund and Adler-Longo reactions revisited: synthesis of tetraphenylporphyrins under equilibrium conditions. *The Journal of Organic Chemistry*, 52(5), 827-836.
- Montierth, J. M., Duran, A. G., Leung, S. H., Smith, K. M., & Schore, N. E. (2000). The polymer-supported MacDonald-type porphyrin synthesis: coupling of two dissimilar dipyrromethanes. *Tetrahedron Letters*, 41(39), 7423-7426.
- Soares Jr, M. N., Gáscon, T. M., Fonseca, F. L., Ferreira, K. S., & Bagatin, I. A. (2014). Evaluation of the biological effects of 5-Cl-8-oxyquinolinepropoxycalix [4] arene and 8-oxyquinolinepropoxycalix [4] arene in vitro and in vivo. *Materials Science and Engineering: C*, 40, 260-266.
- Sautrey, G., Orlof, M., Korchowiec, B., Regnouf de Vains, J. B., & Rogalska, E. (2011). Membrane activity of tetra-p-guanidinoethylcalix [4] arene as a possible reason for its antibacterial properties. *The Journal of Physical Chemistry B*, 115(50), 15002-15012.



Casa abierta al tiempo

Documento revisado y avalado

Nombre del Asesor Interno: Dr. Carlos Alberto Méndez Cuesta

Nombre del Asesor Interno: Dr. Cuauhtémoc Pérez González