

PONTIFICIA UNIVERSIDAD CATÓLICA DEL PERÚ

FACULTAD DE CIENCIAS E INGENIERÍA



**SÍNTESIS Y CARACTERIZACIÓN DE UN COMPLEJO DE
COBRE ASIMÉTRICO DERIVADO DEL ESTILBENO PARA SU
POSIBLE ESTUDIO EN EL DIAGNÓSTICO POR IMAGEN DEL
ALZHEIMER**

Tesis para obtener el título profesional de Licenciado en Química

AUTOR:

David Estefano Grados Bueno

ASESOR:

Paloma Friedda Salas Fernández

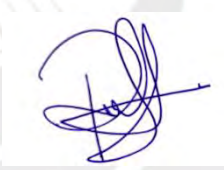
Lima, 2026

Informe de Similitud

Yo,**PALOMA FRIEDDA SALAS FERNÁNDEZ**....., docente de la Facultad deCiencias e Ingeniería..... de la Pontificia Universidad Católica del Perú, asesor(a) de la tesis/el trabajo de investigación titulado **SÍNTESIS Y CARACTERIZACIÓN DE UN COMPLEJO DE COBRE ASIMÉTRICO DERIVADO DEL ESTILBENO PARA SU POSIBLE ESTUDIO EN EL DIAGNÓSTICO POR IMAGEN DEL ALZHEIMER**....., del/de la autor(a)/ de los(as) autores(as) **David Estefano Grados Bueno**.....,dejo constancia de lo siguiente:

- El mencionado documento tiene un índice de puntuación de similitud de 15 %. Así lo consigna el reporte de similitud emitido por el software *Turnitin* el 05/03/2026.
- He revisado con detalle dicho reporte y confirmo que cada una de las coincidencias detectadas no constituyen plagio alguno.
- Las citas a otros autores y sus respectivas referencias cumplen con las pautas académicas.

Lugar y fecha:Lima, 5 de marzo de 2026.....

Apellidos y nombres del asesor / de la asesora: <u>Salas Fernández, Paloma Friedda</u>	
DNI: 41656539	Firma 
ORCID: 0000-0002-3410-5885	

Agradecimientos

Me gustaría agradecer a mi asesora la Dra. Paloma Salas por todos los consejos, la ayuda y el tiempo que dedicó para el desarrollo de esta tesis. Asimismo, también quiero agradecer a mis compañeros de laboratorio Diego Córdova, Diego Uehara, Silvia Valderrama, Tatiana Vélez, Kaori Guillen, Yesenia Núñez, Josemar Cueva y Erick Cirilo por toda su compañía y apoyo durante los últimos años.

A Ermerlan Pernia, Hedy Vásquez y todo el Centro de Espectroscopia de Resonancia Magnética Nuclear de la PUCP por todo su apoyo en la recopilación de los espectros de RMN y masas. También quiero agradecer al Dr. Eric Price, Profesor del Departamento de Química de la Universidad de Saskatchewan por su ayuda en la recopilación de los espectros de masas de alta resolución.

A la Dra. Madina Mansurova por sus consejos en la síntesis de uno de los intermediarios presentados en este trabajo de investigación.

Por último, quiero agradecer sinceramente a mis amigos Diego Sevilla y Aldair Manay. Nuestras conversaciones a lo largo de estos años fueron muy importantes para enriquecer el proceso creativo de esta investigación, aportando valiosas perspectivas que siempre recordaré.

Resumen

La tomografía por emisión de positrones es una técnica de diagnóstico empleada para la detección del Alzheimer mediante el uso de distintos agentes de contraste, los cuales emplean los radioisótopos de carbono-11 y flúor-18. Dichos radioisótopos presentan tiempos de vida media muy cortos, lo cual presenta una desventaja al momento de realizar los exámenes PET.

Por ello, para solucionar esta problemática se propone el uso de otros núcleos que posean tiempos de vida media mayores, dentro de los cuales destaca el cobre-64. Se plantea el desarrollo de nuevos complejos de coordinación de cobre, los cuales posean características estructurales para su posible estudio como agentes de contraste PET en la detección del Alzheimer por medio de la identificación de agregados β -amiloides, unos biomarcadores peptídicos ubicados en el cerebro que son fundamentales en la detección prematura de la enfermedad.

En el presente trabajo de investigación se muestra la síntesis de un complejo de coordinación de cobre (II) con un ligando tetradentado derivado del resveratrol mediante una ruta sintética de seis etapas. Las primeras cinco se enfocaron en la formación de un ligando orgánico tetradentado a partir de un intermediario formilado del resveratrol, una diamina y salicilaldehído. Por otro lado, la etapa final consistió en una reacción de complejamiento entre el ligando orgánico y una sal de cobre para formar el complejo de coordinación final. El rendimiento general de toda la ruta sintética fue de aproximadamente el 14%.

Asimismo, también se presenta la caracterización del complejo, del ligando y de sus respectivos intermediarios a través de las técnicas de espectroscopia FTIR, UV-Vis, resonancia magnética nuclear y espectrometría de masas de alta resolución.

Tabla de contenido

1.	Marco teórico	1
1.1.	La enfermedad del Alzheimer.....	1
1.2.	Placas β -amiloides como biomarcadores del Alzheimer	2
1.3.	Tomografía por emisión de positrones como técnica de diagnóstico por imagen	5
1.3.1.	C-11 y F-18 como agentes de diagnóstico PET.....	6
1.3.2.	Cu-64 como agente de diagnóstico PET en investigación	8
2.	Diseño del complejo de coordinación de cobre	11
3.	Objetivos	16
3.1.	Objetivo general	16
3.2.	Objetivos específicos.....	16
4.	Parte experimental.....	17
4.1.	Equipos y reactivos.....	17
4.1.1.	Equipos	17
4.1.2.	Reactivos	17
4.2.	Metodología.....	19
4.2.1.	Síntesis de A	19
4.2.2.	Síntesis de B	20
4.2.3.	Síntesis de C	21
4.2.4.	Síntesis de D	22
4.2.5.	Síntesis de L	23
4.2.6.	Síntesis de CuL	24
5.	Resultados y discusión	26
5.1.	Síntesis y caracterización de A	26
5.1.1.	Síntesis.....	26
5.1.2.	Caracterización	28
5.1.2.1.	Espectroscopia infrarroja	28
5.1.2.2.	Espectroscopia de resonancia magnética nuclear	29
5.1.2.3.	Espectrometría de masas	33
5.2.	Síntesis y caracterización de B	34
5.2.1.	Síntesis.....	34
5.2.2.	Caracterización	36

5.2.2.1.	Espectroscopia infrarroja.....	36
5.2.2.2.	Espectroscopia de resonancia magnética nuclear.....	38
5.2.2.3.	Espectrometría de masas	42
5.3.	Síntesis y caracterización de C	43
5.3.1.	Síntesis.....	43
5.3.2.	Caracterización	45
5.3.2.1.	Espectroscopia infrarroja.....	45
5.3.2.2.	Espectroscopia de resonancia magnética nuclear.....	47
5.3.2.3.	Espectrometría de masas	53
5.4.	Síntesis y caracterización de D	54
5.4.1.	Síntesis.....	54
5.4.2.	Caracterización	57
5.4.2.1.	Espectroscopia infrarroja.....	57
5.4.2.2.	Espectroscopia de resonancia magnética nuclear.....	58
5.4.2.3.	Espectrometría de masas	61
5.5.	Síntesis y caracterización de L	61
5.5.1.	Síntesis.....	61
5.5.2.	Caracterización	66
5.5.2.1.	Espectroscopia infrarroja.....	66
5.5.2.2.	Espectroscopia de resonancia magnética nuclear.....	68
5.5.2.3.	Espectrometría de masas	80
5.6.	Síntesis y caracterización de CuL	81
5.6.1.	Síntesis.....	81
5.6.2.	Caracterización	82
5.6.2.1.	Espectroscopia infrarroja.....	82
5.6.2.2.	Espectroscopia UV-Vis.....	84
5.6.2.3.	Espectrometría de masas	85
6.	Conclusiones	87
7.	Bibliografía	89
8.	Anexos	93

Índice de figuras

Figura 1: Esquema representativo de la formación de agregados A β	3
Figura 2: Esquema de una prueba de diagnóstico PET	6
Figura 3: Agentes de contraste del Alzheimer marcados con ^{11}C y ^{18}F	7
Figura 4: Estructuras moleculares de los compuestos de cobre en investigación	9
Figura 5: Estructura del compuesto propuesto CuL	11
Figura 6: Estructura molecular del resveratrol	12
Figura 7: Complejos de coordinación simétricos derivados del estilbena	13
Figura 8: Esquema de síntesis del complejo CuL	15
Figura 9: Estructuras enumeradas de protón y carbono de A	19
Figura 10: Estructuras enumeradas de protón y carbono de B	21
Figura 11: Estructuras enumeradas de protón y carbono de C	22
Figura 12: Estructura enumerada de protón de D	23
Figura 13: Estructuras enumeradas de protón y carbono de L	24
Figura 14: Mecanismo propuesto para la formación del compuesto A	27
Figura 15: Espectro FTIR del compuesto A	29
Figura 16: Espectro ^1H -RMN del compuesto A en $\text{CDCl}_3\text{-d}_1$	31
Figura 17: Espectro ^{13}C -RMN del compuesto A en $\text{CDCl}_3\text{-d}_1$	32
Figura 18: Espectro de masas del compuesto A	33
Figura 19: Mecanismo propuesto para la formación del compuesto B	35
Figura 20: Espectro FTIR del compuesto B	37
Figura 21: Superposición de los espectros FTIR de los compuestos A (naranja) y B (azul)	38
Figura 22: Espectro ^1H -RMN del compuesto B en $\text{CDCl}_3\text{-d}_1$	40
Figura 23: Espectro ^{13}C -RMN del compuesto B en $\text{CDCl}_3\text{-d}_1$	41
Figura 24: Espectro de masas del compuesto B	42
Figura 25: Mecanismo de reacción del compuesto C	44
Figura 26: Espectro FTIR del compuesto C	46
Figura 27: Espectros FTIR de los compuestos B (naranja) y C (azul)	47
Figura 28: Espectro ^1H -RMN del intermediario C en DMSO-d_6	49
Figura 29: Espectro COSY del intermediario C en DMSO-d_6	50
Figura 30: Espectro ^{13}C -RMN del intermediario C en DMSO-d_6	51
Figura 31: Espectro HSQC del intermediario C en DMSO-d_6	52
Figura 32: Espectro de masas de alta resolución del compuesto C	54
Figura 33: Mecanismo de reacción propuesto para la formación del compuesto D	55
Figura 34: Espectro FTIR del compuesto D	58
Figura 35: Espectro ^1H -RMN del compuesto D en DMSO-d_6	60
Figura 36: Espectro de masas del compuesto D	61
Figura 37: Mecanismo propuesto para la formación del ligando L y sus subproductos	65
Figura 38: Espectro FTIR del ligando L	67
Figura 39: Espectros FTIR de los compuestos L (azul), C (naranja) y D (verde)	67
Figura 40: Espectro ^1H -RMN del ligando L en DMSO-d_6	73

Figura 41: Espectro COSY del ligando L en DMSO-d ₆	74
Figura 42: Espectro COSY del ligando L amplificado de 6.0 a 8.0 ppm en DMSO-d ₆ .	75
Figura 43: Espectro COSY del ligando L amplificado de 1.5 a 4.0 ppm en DMSO-d ₆ .	76
Figura 44: Espectro ¹³ C-RMN del ligando L en DMSO-d ₆	77
Figura 45: Espectro HSQC del ligando L en DMSO-d ₆	78
Figura 46: Espectro HSQC del ligando L amplificado de 100 a 140 ppm en DMSO-d ₆	79
Figura 47: Espectro de masas de alta resolución del ligando L	81
Figura 48: Espectro FTIR del complejo CuL	83
Figura 49. Espectros FTIR de los compuestos CuL (azul) y L (naranja).	84
Figura 50: Espectros UV-Vis del compuesto CuL (azul) y L (rojo).	85
Figura 51: Espectro de masas de alta resolución del complejo CuL	86



Anexos

Anexo 1: Espectro HSQC del intermediario B	93
Anexo 2: Espectro HSQC del intermediario B amplificado de 110 a 135 ppm.....	93



Lista de abreviaturas

AD	Alzheimer
APOE	Apolipoproteína
APP	Proteína precursora de amiloides
Aβ	β -amiloide
ATR	Reflectancia total atenuada
BBB	Barrera hematoencefálica
Boc	tert-butiloxicarbonilo
Boc₂O	Dicarbonato de di-tert-butilo
COSY	Espectroscopia de correlación
DMF	N,N-dimetilformamida
ESI	Ionización por electrospray
FDI	Ionización por desorción de campo
FTIR	Espectroscopia infrarroja con transformada de Fourier
HRMS	Espectrometría de masas de alta resolución
HSQC	Espectroscopia de correlación heteronuclear cuántica simple
NEt₃	Trietilamina
PET	Tomografía por emisión de positrones
RMN	Resonancia magnética nuclear
ROS	Especies reactivas de oxígeno
t_{1/2}	Tiempo de vida media

1. Marco teórico

1.1. La enfermedad del Alzheimer

El Alzheimer (AD) es una enfermedad neurodegenerativa, la cual se caracteriza por síntomas como la pérdida de memoria, el declive cognitivo, la pérdida de coordinación y, como última etapa, la muerte. Esta enfermedad es la forma de demencia más común a nivel mundial y, por lo general, afecta a adultos mayores de 60 años.¹ El proceso neurodegenerativo se divide en diferentes etapas caracterizadas por una muerte neuronal progresiva que lleva al paciente a experimentar distintos síntomas de demencia, dependiendo del grado de desarrollo de la enfermedad.²

El proceso neurodegenerativo del AD demora muchos años en desarrollar y se divide en tres etapas principales: etapa preclínica, etapa prodrómica y etapa de demencia.^{3,4} La etapa preclínica se caracteriza por síntomas muy esporádicos de pérdida de memoria que pueden confundirse con el proceso natural de envejecimiento, en esta fase el paciente puede realizar actividades cotidianas como cocinar o manejar de forma independiente, ya que no se muestran problemas de coordinación motora. En la etapa prodrómica los episodios de pérdida de memoria se vuelven más frecuentes y son acompañados de dificultades en la toma de decisiones y la resolución de problemas; asimismo, el paciente empieza a tener dificultades para realizar actividades básicas. En la fase de demencia, la pérdida de memoria, la dificultad para hablar y la incapacidad para retener información se vuelven problemas muy recurrentes. De igual manera, el paciente presenta problemas graves relacionados a la toma de decisiones y la capacidad de planificación: el paciente es incapaz de realizar cualquier actividad básica como vestirse, bañarse o comer de forma independiente y; también, presenta un comportamiento apático, depresivo e irritable.⁴

En general, se afirma que el síntoma principal del AD es el declive cognitivo, producido por la muerte neuronal, que culmina en la pérdida total de independencia del paciente y en su incapacidad para realizar actividades básicas como vestirse o bañarse.⁴

Actualmente, se propone que la edad, la obesidad, la genética, las condiciones ambientales y la dishomeostasis de metales esenciales son factores que podrían estar relacionados al desencadenamiento del AD.^{1,2} Sin embargo, no se sabe con exactitud cómo influyen dichos factores en el avance de la enfermedad.¹ En general, el mecanismo patogénico y las causas que contribuyen al desarrollo del AD actualmente son desconocidos, lo cual genera que los tratamientos estén enfocados en aliviar los síntomas mas no en curar la enfermedad.^{1,2} Por ello, es crucial diagnosticar la enfermedad en una etapa temprana, para así proveer al paciente de un tratamiento preventivo que evite el desarrollo y avance neurodegenerativo.

1.2. Placas β -amiloides como biomarcadores del Alzheimer

Una de las características patológicas más relevantes de la enfermedad del Alzheimer es la presencia de solidificaciones peptídicas distribuidas en el tejido cerebral del paciente conocidas como placas o agregados $A\beta$. Dichas solidificaciones están principalmente constituidas por el péptido β -amiloide ($A\beta$), un compuesto que posee distintas formas isomórficas de 39 a 42 residuos producidas a partir de la degradación de la proteína precursora de amiloides (APP).^{1,2} Se propone que en el AD existen factores de riesgo, los cuales provocan que la concentración de $A\beta$ aumente drásticamente hasta exceder un límite de solubilidad, generando la formación de agregados sólidos (Figura 1).² Sin embargo, el mecanismo de formación de estos agregados y los factores exactos que contribuyen a la deposición peptídica no son conocidos en su totalidad.¹

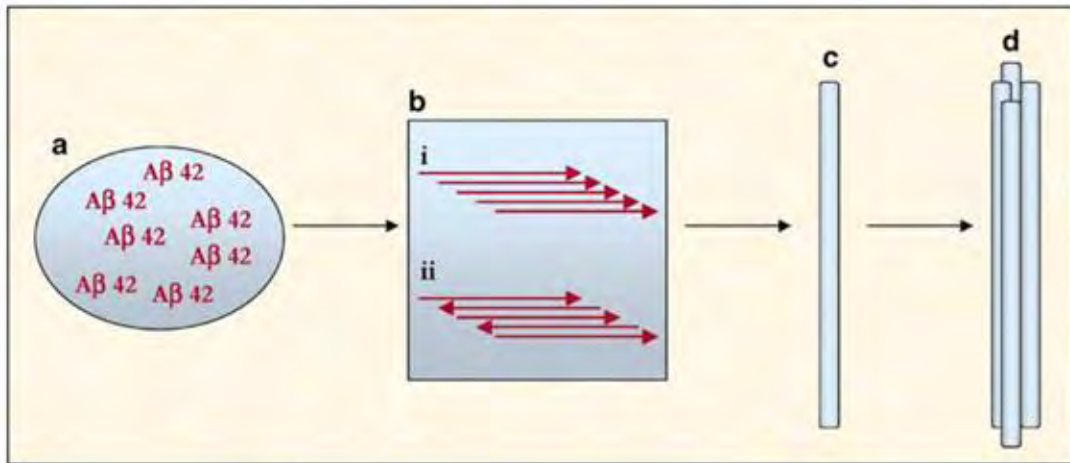


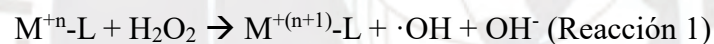
Figura 1: Esquema representativo de la formación de agregados A β . En a) se observa un aumento de la concentración de péptidos A β ; en b) se aprecian los péptidos interaccionando de forma paralela (i) o antiparalela (ii); y en c) y d) se observa la formación de solidificaciones peptídicas más grandes que eventualmente se convierten en agregados sólidos (Adaptado de la referencia 2).²

Actualmente, existen dos hipótesis que tratan de explicar el proceso de formación de los agregados A β y las causas que podrían influir en el desarrollo del AD. Estas son la hipótesis de la cascada amiloide y la hipótesis del estrés oxidativo.

La hipótesis de la cascada amiloide propone que la formación de agregados A β es el primer evento patogénico de la enfermedad y que, además, es la causa principal del proceso neurodegenerativo.⁵⁻⁷ En el AD, el ciclo de producción y eliminación de los péptidos A β se encuentra alterado, provocando su acumulación y la formación de placas A β en el tejido cerebral.⁶ Se sugiere que daños genéticos en proteínas como la APP y la Apolipoproteína (APOE) podrían contribuir al proceso acumulativo de las placas A β .^{6,7} La APP es una biomolécula cuya degradación produce los péptidos A β , por ello, mutaciones en dicha proteína pueden acelerar el proceso de degradación y promover la acumulación de estos péptidos.⁶ Por otro lado, APOE es una macromolécula encargada de limpiar el exceso de péptidos A β , pero una de sus formas isomórficas, la APOE ϵ 4, es incapaz de cumplir con esta función de limpieza y contribuye al proceso acumulativo.^{6,7}

Por otro lado, la hipótesis del estrés oxidativo plantea que el exceso de especies reactivas de oxígeno (ROS) contribuye a la muerte neuronal y al declive cognitivo. El estrés oxidativo se define como el desbalance de compuestos ROS en un organismo,^{2,8} de los cuales resaltan los superóxidos, los peróxidos y los radicales hidroxilos.¹ El exceso de ROS puede generar mutaciones en las biomoléculas cercanas, provocando que no cumplan sus funciones de forma ideal.² El cerebro es un órgano muy susceptible al daño oxidativo debido a que consume 20% del oxígeno del cuerpo,⁹ por ello, se sugiere que el estrés oxidativo podría contribuir al proceso acumulativo de péptidos A β y a la muerte neuronal.

La teoría del estrés oxidativo también plantea que la dishomeostasis de metales esenciales como el Fe y el Cu contribuye a la producción de compuestos ROS, principalmente, por medio de la reacción de Fenton (Reacción 1).¹⁰⁻¹²



De igual manera, se sugiere que el APP y los péptidos A β son capaces de complejar los núcleos de Fe y Cu, provocando que dichas biomoléculas sean directamente afectadas por la producción de compuestos ROS mediante la reacción de Fenton.¹¹⁻¹³ En consecuencia, el daño oxidativo ocasionado aceleraría el proceso degenerativo y la formación de solidificaciones peptídicas.¹¹ Por otro lado, otro metal esencial involucrado en el proceso neurodegenerativo es el Zn, el cual está presente en la estructura de muchas biomoléculas antioxidantes como las metalotioneínas y las superóxido dismutasas.¹ Por ende, un déficit de Zn en el organismo contribuye a un mal funcionamiento de las proteínas antioxidantes, generando un exceso de ROS en el individuo afectado.¹⁴

Si bien las teorías de la cascada amiloide y el estrés oxidativo ayudan a comprender los factores que influyen en la formación de agregados A β , todavía hace falta evidencia

experimental que ayude a establecer el mecanismo exacto por el cual se forman las solidificaciones peptídicas. Asimismo, se establece que la deposición de agregados A β mantiene una relación con el desarrollo de la enfermedad del Alzheimer. Por ello, muchos autores proponen que a partir de la identificación de los agregados A β sería posible dar un diagnóstico de la enfermedad.^{15,16}

1.3. Tomografía por emisión de positrones como técnica de diagnóstico por imagen

Actualmente, existen distintas técnicas utilizadas en el diagnóstico del Alzheimer que se enfocan en generar una imagen cerebral en la cual sea posible distinguir las zonas damnificadas por la deposición de agregados A β .^{17,18} Los métodos empleados para la recopilación de imágenes cerebrales se denominan técnicas de diagnóstico por imagen y una de las más importantes en el diagnóstico del AD es la tomografía por emisión de positrones (PET).

La técnica de imagen PET permite recopilar una imagen del cerebro en la cual es posible estudiar las zonas dañadas por la deposición peptídica.¹⁷ Para ello, es necesario el uso de agentes de contraste: compuestos que generan una mejora en la calidad de la imagen adquirida y permiten resaltar las zonas del tejido de interés. En este caso, el objetivo es utilizar agentes de contraste que permitan la identificación de agregados A β en las imágenes de diagnóstico.¹⁷

Los agentes de contraste aplicados en PET son moléculas marcadas con isótopos radioactivos que se descomponen por emisión de positrones. En esta técnica, el paciente recibe de forma intravenosa un radiofármaco que se distribuye mediante el sistema sanguíneo hasta ser asimilado por el cerebro. Posteriormente, la molécula de contraste interactúa con las zonas de alta concentración de agregados A β . Luego, el radionúclido

decae por medio de emisión de positrones que, al entrar en contacto con electrones, generan dos fotones de 511 keV.¹⁷ Dichos fotones son detectados por sensores de centelleo y permiten la reconstrucción de la imagen cerebral. Naturalmente, las zonas de mayor densidad de señal corresponderán a las secciones con mayor concentración de agregados A β , debido a la afinidad que los agentes de contraste presentan por los péptidos mencionados (Figura 2).¹⁷

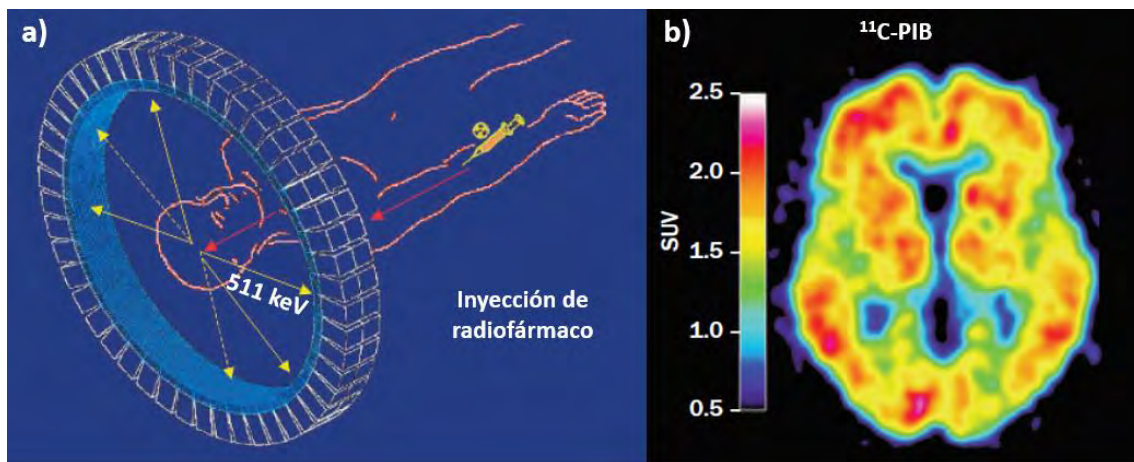


Figura 2: Esquema de una prueba de diagnóstico PET. En a) se observa la recopilación de una imagen cerebral de un paciente y en b) se aprecia la imagen adquirida (Adaptado de la referencia 17 y 19).^{17,19}

Actualmente, los radiofármacos comerciales utilizados para este fin están marcados con los isótopos de ^{11}C y ^{18}F ,²⁰ aunque, muchos autores plantean la síntesis de nuevos agentes de contraste que implementen el uso de otros núcleos. De entre estas propuestas, el ^{64}Cu es uno de los radioisótopos más investigados debido a las propiedades que presenta, las cuales serán expuestas en el capítulo 1.3.2.

1.3.1. C-11 y F-18 como agentes de diagnóstico PET

Los agentes de contraste de ^{11}C y ^{18}F son muy utilizados en el diagnóstico del Alzheimer por PET.²⁰ Estos compuestos son sintetizados haciendo uso de un ciclotrón médico; un acelerador de partículas utilizado para la preparación del radionúclido de interés. Después de producir los radiocompuestos, estos son administrados por vía intravenosa al paciente

hasta ser asimilados por el cerebro e interactuar con las zonas de alta concentración de agregados.¹⁷

Los agentes de diagnóstico interactúan con los agregados A β por medio de interacciones del tipo π - π en la zona hidrofóbica de los péptidos.²¹ Para ello, es necesario el uso de grupos funcionales como el estilbena o el benzotiazol en la estructura de las moléculas, ya que dichos grupos son capaces de interactuar muy favorablemente con los agregados A β .²¹ En la Figura 3, se observan las estructuras moleculares del compuesto de Pittsburgh, del Flutemetamol y del Florbetaben, los cuales son agentes de contraste que integran los grupos funcionales mencionados y son capaces de identificar las zonas de alta concentración de placas A β en el tejido cerebral de pacientes de Alzheimer.¹⁹

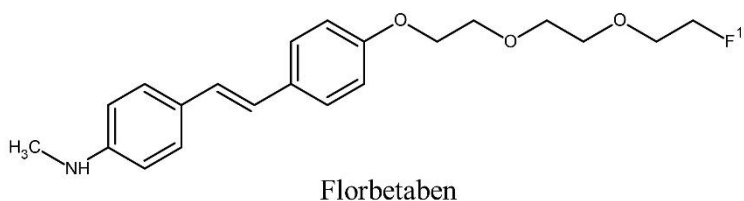
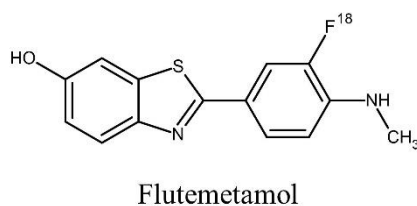
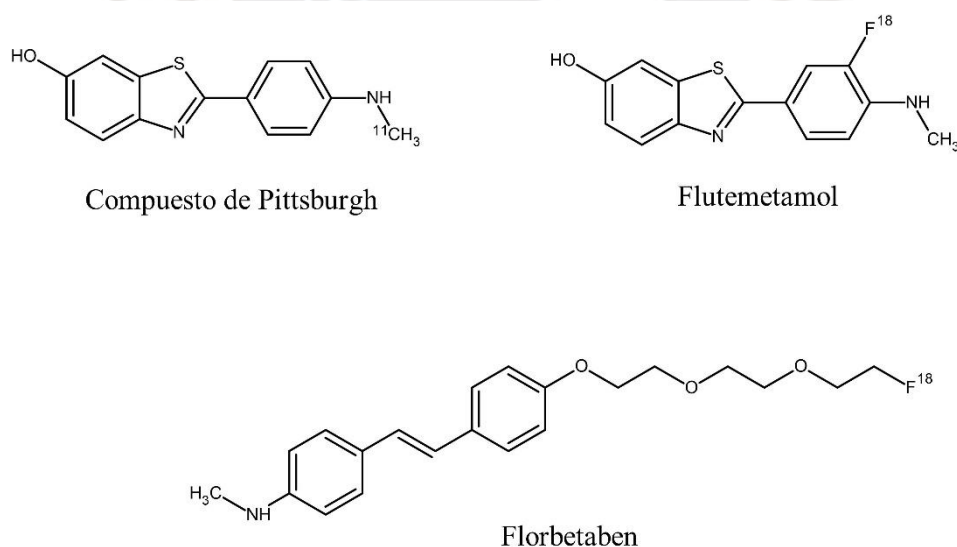


Figura 3: Agentes de contraste del Alzheimer marcados con ^{11}C y ^{18}F .

Si bien los radiofármacos de ^{11}C y ^{18}F son capaces de identificar las placas A β por medio de PET, ambos radioisótopos poseen tiempos de vida media ($t_{1/2}$) muy cortos, de 20.4 y 109.7 minutos, respectivamente.²¹ Estos valores indican que los radionúclidos decaen muy rápidamente y, por ello, las pruebas de diagnóstico se deben realizar de forma muy acelerada. De igual manera, los agentes de contraste deben ser sintetizados en los mismos

centros de salud en donde se realicen los exámenes para evitar que la desintegración de los núcleos afecte la efectividad de los agentes de diagnóstico. Lamentablemente, no muchos hospitales cuentan con la tecnología necesaria para realizar dichas síntesis, lo cual limita a que los exámenes sean realizados en muy pocos centros de salud. Por ello, muchos autores proponen el uso de nuevos radioisótopos con $t_{1/2}$ mayores para la síntesis de nuevos agentes de contraste. Dentro de varias propuestas, el ^{64}Cu es una de las más prometedoras principalmente porque mantiene un $t_{1/2}$ mayor al del C-11 y el F-18.

1.3.2. Cu-64 como agente de diagnóstico PET en investigación

El cobre es un metal de número atómico 29 que presenta diferentes especies isotópicas, de las cuales resalta el ^{64}Cu . Dicho radioisótopo se descompone por medio de emisión de positrones con un $t_{1/2}$ de 12.7 horas.¹⁵ Actualmente, muchos proyectos tienen como objetivo implementar al ^{64}Cu en el desarrollo de nuevos complejos de coordinación que actúen como agentes de contraste para el diagnóstico del Alzheimer por PET, con el objetivo de solucionar el problema de degradación rápida del ^{11}C y ^{18}F .^{15,16,21-24}

Los compuestos de ^{64}Cu deben poseer características estructurales que cumplan diversas funciones en el complejo resultante. En primer lugar, la estructura debe poseer un grupo quelante del Cu(II), con el objetivo de que el radionúclido se mantenga siempre integrado a la estructura del complejo. En segundo lugar, es necesaria la presencia de un grupo afín a las estructuras A β , con el objetivo de interactuar selectivamente con las zonas de alta concentración de péptidos A β . Finalmente, es necesario que el complejo tenga una estructura capaz de ser asimilada por el cerebro, ya que dicho órgano se encuentra protegido por la barrera hematoencefálica (BBB), la cual es una barrera protectora muy selectiva respecto al tamaño y la lipofilidad de las moléculas que deja ingresar. Por ello, muchos agentes de contraste necesitan incorporar ciertos sustituyentes en sus estructuras que les permitan adoptar un tamaño y lipofilidad adecuados para atravesar la BBB.

En la Figura 4, se observan cinco estructuras moleculares de complejos de cobre desarrollados para su uso en el diagnóstico del Alzheimer por PET. Las moléculas son derivados del compuesto **Cu(atsm)**, el cual está en investigación para su uso en el diagnóstico PET de tumores de cuello y cabeza, ya que presenta resultados prometedores en la producción de imágenes de diagnóstico.²¹ Por ello, los autores McInnes y Noor modificaron la estructura base del **Cu(atsm)** en cinco nuevas estructuras moleculares adaptadas para diagnosticar el AD por PET.^{15,16}

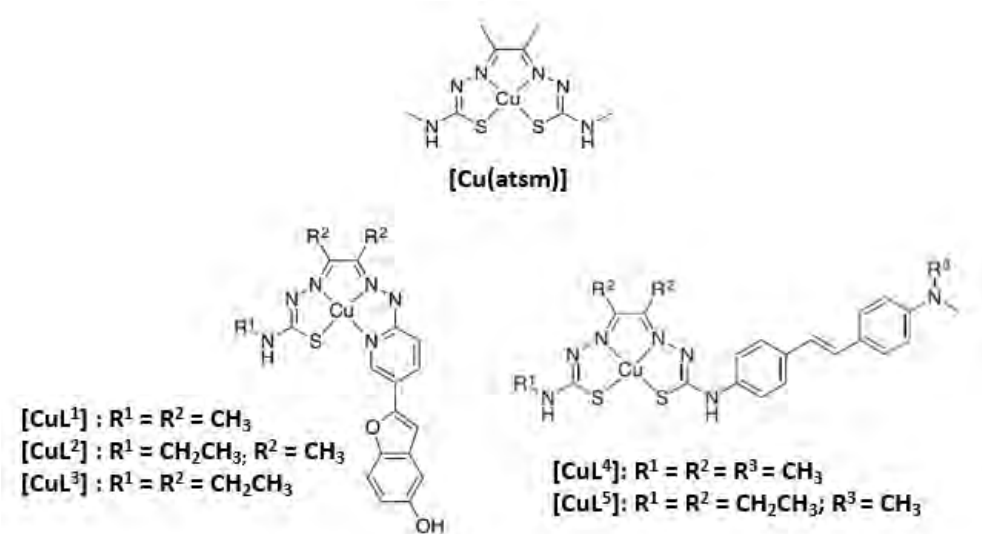


Figura 4: Estructuras moleculares de los compuestos de cobre en investigación.^{15,16}

El uso del ligando atsm en **CuL¹⁻⁵** permite mantener quelado y estable al ion Cu(II), evitando que se separe de la estructura de la molécula.^{15,16} Por otro lado, las moléculas **CuL^{4 y 5}** presentan la mejor afinidad por los agregados A β . Esto fue demostrado mediante exámenes *in vitro*, en los cuales se trató tejido cerebral con altas concentraciones de agregados A β con los compuestos **CuL^{4 y 5}**, y se identificó la tendencia de dichas moléculas a interactuar con las zonas afectadas por las placas A β .¹⁶ Asimismo, se determinó que los compuestos **CuL^{3 y 4}** poseían una mayor facilidad para atravesar la BBB y ser asimilados por el cerebro.^{15,16}

En general, se observa que las distintas características estructurales de las moléculas afectan su estabilidad, su afinidad por los agregados A β y su permeabilidad a través de la BBB. Lo que se busca es sintetizar compuestos de cobre estables con estructuras capaces de atravesar la BBB e identificar las zonas de alta concentración de péptidos A β , siendo la permeabilidad de la BBB la propiedad más difícil de conseguir debido a la alta selectividad de dicha barrera.



2. Diseño del complejo de coordinación de cobre

Para contribuir con lo presentado en la sección anterior, este trabajo de investigación propone la síntesis y caracterización de un nuevo complejo de coordinación de cobre, el cual posea características estructurales de interés para su posible estudio en el diagnóstico del AD. En la Figura 5 se observa la estructura de la molécula propuesta, denominada como **CuL**. Dicha molécula posee distintos arreglos estructurales que buscan cumplir tres aspectos fundamentales: el complejamiento del Cu(II), la identificación de las placas A β y la permeabilidad a través de la BBB.

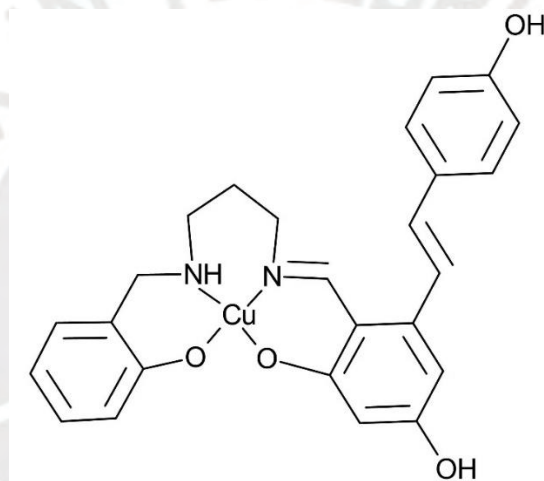


Figura 5: Estructura del compuesto propuesto **CuL**

Es de vital importancia que el ligando resultante compleje al Cu(II) y lo mantenga lo más inerte posible, debido a que en el plasma sanguíneo existen proteínas como la ceruloplasmina y la albúmina, capaces de interactuar con el núcleo metálico y romper la estructura del complejo, evitando que este cumpla su rol de diagnóstico. Por ello, se escogió que la molécula **CuL** posea un ligando tetradentado con dos oxígenos y dos nitrógenos que, al reaccionar con un ácido intermedio como el Cu(II), actúen como donadores de electrones y permiten la formación de un complejo termodinámica y cinéticamente estable en presencia de dichas proteínas.²⁵

Otra característica importante en el diseño de este complejo es su afinidad por las placas A β que se consigue mediante el uso de estructuras aromáticas como el estilbeno. Dicha estructura mantiene interacciones del tipo π - π con la zona hidrofóbica de los péptidos A β , lo cual permite una identificación selectiva frente a otras biomoléculas.²¹ Por ello, en la estructura de **CuL** se quiso integrar la presencia del resveratrol (Figura 6), un derivado del estilbeno, que posee propiedades medicinales relacionadas a su alta capacidad antioxidante.²⁶ Se propone que el uso del resveratrol en el complejo podría permitir que la molécula **CuL** sea selectiva de los agregados A β permitiendo su identificación en una imagen de diagnóstico PET.

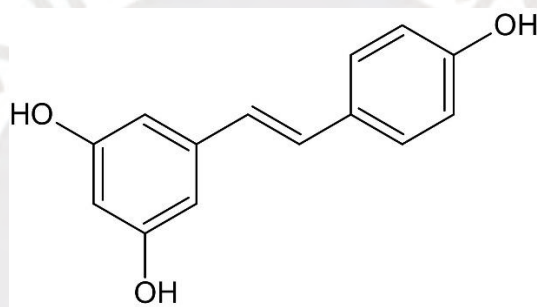


Figura 6: Estructura molecular del resveratrol.

De igual manera, es fundamental que el complejo resultante pueda atravesar exitosamente la BBB y para ello es importante tomar en cuenta ciertos aspectos clave. En primer lugar, la masa del compuesto final debe ser menor a los 600 Da, ya que por debajo de este rango se obtiene una lipofiliidad adecuada que facilita la asimilación cerebral.²⁷ Asimismo, se postula que los compuestos neutros tienen mayor facilidad para traspasar la BBB, por ello se busca que la carga positiva del Cu(II) se anule con la carga negativa de L^{-2} para generar un compuesto de carga neutra.

En trabajos anteriores de nuestro grupo de investigación, se han sintetizado un número de complejos de coordinación de Cu(II) derivados del estilbeno para su estudio como agentes de contraste en la enfermedad del Alzheimer (Figura 7). La estructura de dichos

complejos se caracteriza por tener dos grupos de estilbenos que coordinan alrededor del núcleo metálico, generando un complejo de cobre simétrico.^{28,29} La presencia de dos grupos estilbeno podría generar que los complejos sean muy selectivos de las placas A β , pero también generaría estructuras moleculares relativamente grandes con masas mayores a los 600 Da lo que podría dificultar la asimilación cerebral. Por ello, es de interés en esta tesis sintetizar un nuevo complejo de coordinación asimétrico que posea solo un derivado del estilbeno, ya que dicho cambio estructural generaría una estructura significativamente más pequeña a sus predecesores simétricos, lo que permitiría mantener la afinidad por las placas A β y mejorar la permeabilidad cerebral.

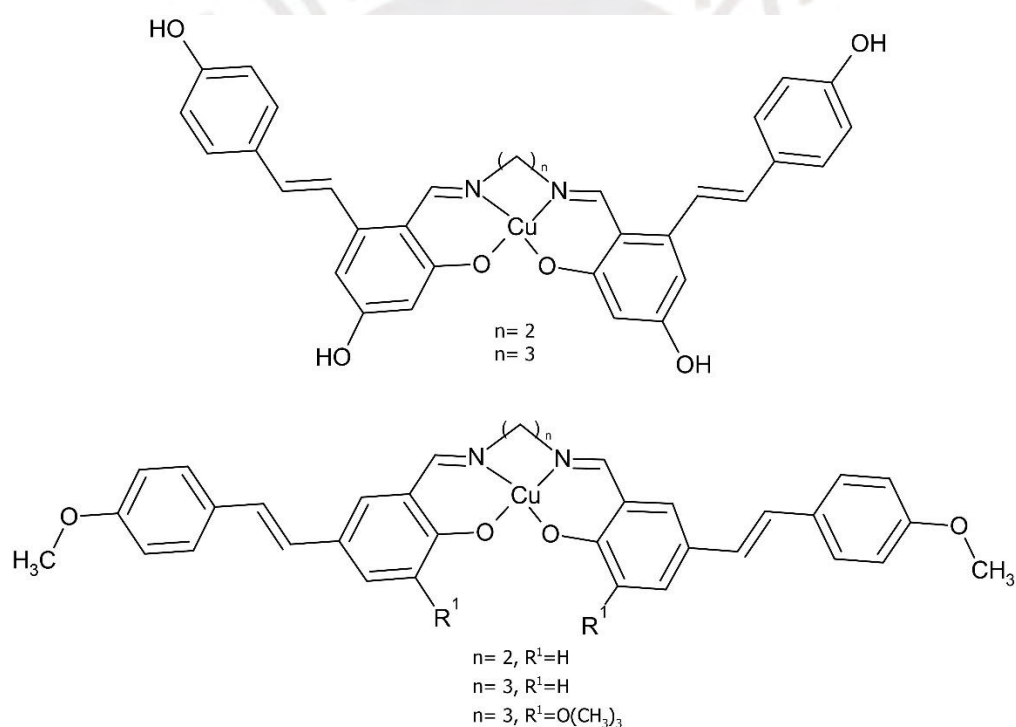


Figura 7: Complejos de coordinación simétricos derivados del estilbeno.

La ruta sintética del complejo **CuL** propuesto se muestra en el esquema de síntesis de la Figura 8. Los primeros cinco pasos se enfocan en la síntesis de un ligando orgánico asimétrico que integre la estructura de un estilbeno y que posea cuatro puntos de

coordinación. Por otro lado, la etapa final se centra en la síntesis del complejo de coordinación de cobre (II).

La primera etapa consiste en la protección del 1,3-diaminopropano con el reactivo dicarbonato de di-*tert*-butilo (Boc_2O) para la obtención del intermediario **A**, dicha reacción consiste en la protección de uno de los grupos amino del 1,3-diaminopropano con el reactivo Boc_2O , para que así el grupo amino libre pueda reaccionar en las etapas posteriores para la formación del ligando asimétrico.³⁰⁻³² En la segunda etapa, el intermediario **A** reacciona con un aldehído fenólico mediante una reacción de adición nucleofílica para formar un enlace imina, que luego es reducido con NaBH_4 para generar al intermediario **B**. La reducción del enlace imina es fundamental para generar un enlace C-N que soporte las condiciones ácidas de la siguiente reacción.^{33,34} En la tercera etapa, la molécula **B** reacciona con HCl mediante una reacción de desprotección para remover el grupo protector Boc y producir el intermediario **C** con un rendimiento prácticamente cuantitativo.³⁴⁻³⁸ La cuarta etapa, la síntesis del intermediario **D**, consiste en la formilación de uno de los anillos aromáticos del reactivo de resveratrol por medio de una adaptación de la reacción de Vilsmeier-Haack con cloruro de oxalilo.^{28,39} El intermediario **D** es un derivado del resveratrol con una estructura análoga a la del estilbeno que podría presentar cierta selectividad por los agregados $\text{A}\beta$, por ello se busca introducir dicho intermediario en la estructura del ligando **L**. En la quinta etapa, la molécula **C** es neutralizada con trietilamina y reacciona con el intermediario **D** por medio de una reacción de adición nucleofílica para generar el ligando asimétrico **L**, el cual es un ligando nuevo no reportado en la literatura que mantiene un grupo estilbeno y tiene una estructura significativamente menor a sus predecesores simétricos, lo que podría generar mejoras en la asimilación cerebral del complejo de coordinación CuL . Finalmente, en la última etapa el ligando **L** reacciona con acetato de cobre monohidratado mediante una reacción de complejamiento

en la cual se forma el complejo **CuL**.^{28,40} Más adelante, en el capítulo 5, se detallará más acerca de la síntesis de cada intermediario con su respectiva caracterización.

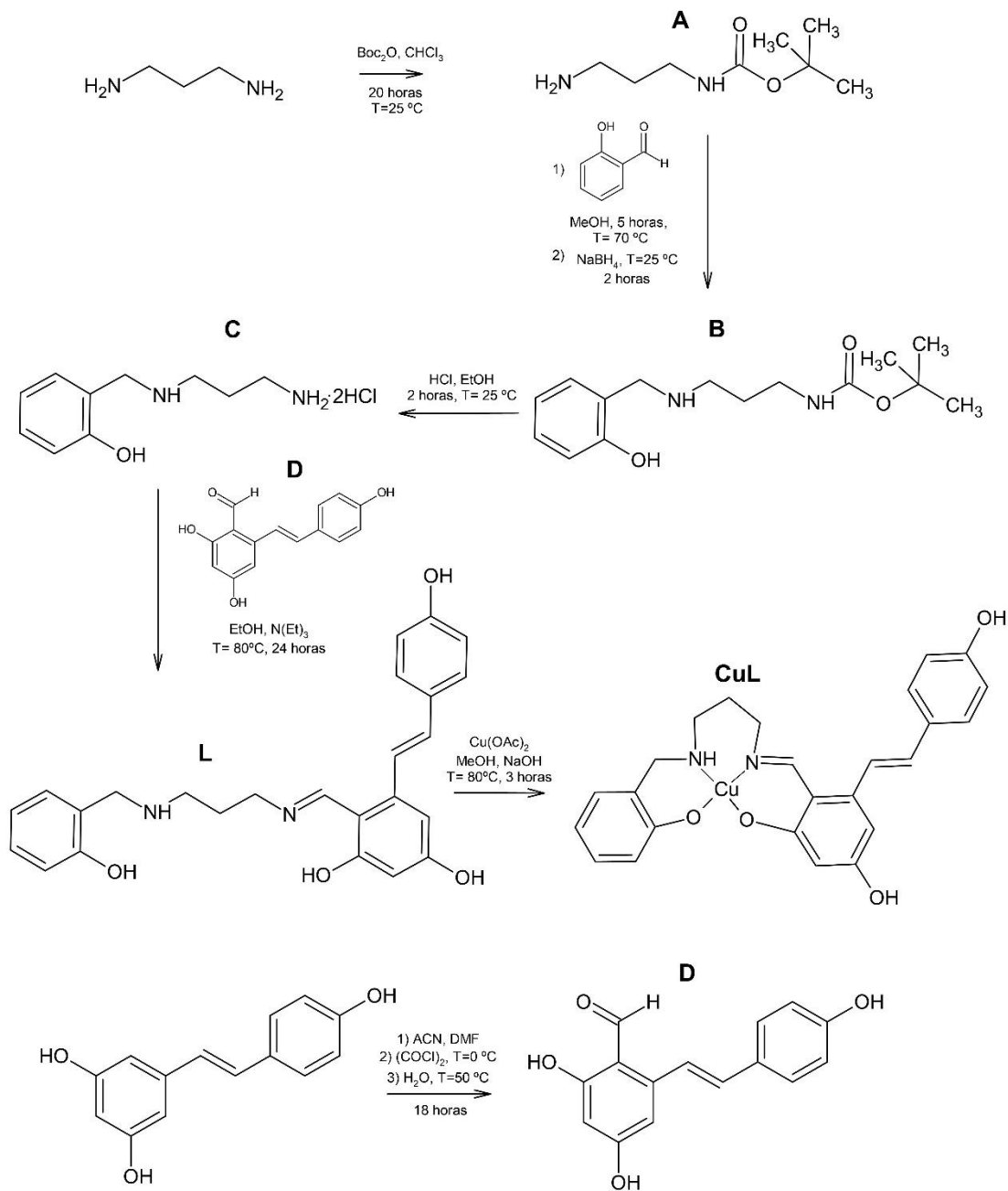


Figura 8: Esquema de síntesis del complejo **CuL**.

3. Objetivos

3.1. Objetivo general

Diseñar, sintetizar y caracterizar un complejo de coordinación de Cu(II) asimétrico derivado del estilbena que pueda ser estudiado como agente de diagnóstico PET para la enfermedad del Alzheimer.

3.2. Objetivos específicos

- Sintetizar un ligando de coordinación asimétrico derivado del estilbena que pueda actuar como un ligando tetradentado de Cu(II).
- Caracterizar el ligando asimétrico de Cu(II) derivado del estilbena por medio de las técnicas de UV-Vis, FTIR, RMN (^1H , ^{13}C , COSY, HSQC) y HRMS.
- Sintetizar un complejo de coordinación de Cu(II) asimétrico derivado del estilbena con posible aplicación para el diagnóstico del Alzheimer por PET.
- Caracterizar el complejo asimétrico de Cu(II) derivado del estilbena por medio de las técnicas de UV-Vis, FTIR y HRMS.

4. Parte experimental

4.1. Equipos y reactivos

4.1.1. Equipos

Los espectros de resonancia magnética nuclear fueron obtenidos en el espectrómetro Bruker Ascend de 500 MHz del Centro de Espectroscopia Magnética Nuclear de la sección química en la Pontificia Universidad Católica del Perú (PUCP). Los espectros fueron analizados en el software Bruker TopSpin 4.1.4.

Los espectros FTIR fueron obtenidos en el espectrofotómetro Perkin Elmer Frontier MIR/NIR de la sección química en la PUCP en un intervalo de 400 a 4000 cm^{-1} por reflectancia total atenuada (ATR). Los espectros fueron analizados en el software PerkinElmer Spectrum versión 10.4.3.339.

Los espectros de masas de alta resolución fueron adquiridos en un espectrómetro JEOL AccuTOF GCv 4G con ionizador por desorción de campo (FDI) y analizador de tiempo de vuelo (TOF) en el Departamento de Química de la Universidad Saskatchewan en Canadá. Asimismo, los espectros de masas de media resolución fueron recopilados por un espectrómetro de masas esquire 6000 de Bruker con ionización por electrospray (ESI) en la sección de química de la PUCP.

Los espectros UV-Vis fueron recopilados en un espectrofotómetro de haz simple modelo Agilent 8453E ubicado en la sección química de la PUCP.

4.1.2. Reactivos

- 1,3-diaminopropano de Merck al 99%
- Dicarbonato de di-tert-butilo de Sigma Aldrich al 99%
- Cloruro de sodio industrial J.T Baker al 99%

- Sulfato de sodio anhidro de Scharlau al 99%
- Salicilaldehído de Merck al 99%
- Borohidruro de sodio de Sigma Aldrich al 98%
- Bicarbonato de sodio de Scharlau al 99%
- Ácido clorhídrico de J.T Baker al 37%
- Resveratrol de J&W Pharmed al 96%
- N,N-dimetilformamida de Sigma Aldrich grado p.a
- Cloruro de oxalilo de Sigma Aldrich al 97%
- Trietilamina de Merck al 99%
- Hidróxido de sodio de Merck al 99%
- Acetato de cobre monohidratado de Merck al 99%
- Sílica gel de 60 (0.063-0200 mm) de Merck para columna cromatográfica
- Tamices moleculares de Sigma Aldrich de 4 Å 8-12 Mesh

Solventes:

- Cloroformo de Riedel-de-haen al 99.4%
- Metanol de J.T Baker al 99.8%
- Acetato de etilo de J.T Baker al 99.9%
- Etanol de J.T Baker al 99.5%
- Hexano de J.T Baker al 99.9%
- Acetonitrilo de J.T Baker al 99.9%

4.2. Metodología

4.2.1. Síntesis de A

En un balón de 100 mL se agregan 5 mL de 1,3-diaminopropano en exceso (0.059 mol) junto con 20 mL de cloroformo, la mezcla se agita y se coloca en un baño de hielo a 0 °C. Luego, se disuelven 400 µL de Boc₂O (1.741 mmol) en 10 mL de cloroformo y se agrega a la primera solución muy lentamente. La mezcla se deja reaccionar bajo agitación magnética y a temperatura ambiente durante 20 horas. Después, se agregan 20 mL de salmuera y se agita hasta observar la formación de dos fases traslucidas. La fase orgánica es extraída en una pera de separación y se lava con una solución de salmuera (3 x 20 mL), luego la fase de cloroformo es secada con Na₂SO₄ anhidro, filtrada y rotaevaporada hasta obtener un sólido de color blanco. Rendimiento: 95% respecto del reactivo Boc₂O.

¹H-RMN (500 MHz, CDCl₃-d₁): 1.412 ppm (9H, s, H₆); 1.589 ppm (2H, m, H₃, 6.73 Hz); 2.737 ppm (2H, t, H₂, 6.76 Hz); 3.184 ppm (2H, m, H₄, 5.98 Hz); 4.919 ppm (1H, s, H₅).

¹³C-RMN (125 MHz, CDCl₃-d₁): 28.370 ppm (3C, C₄); 33.266 ppm (1C, C₁); 38.331 ppm (1C, C₁); 39.545 ppm (1C, C₁); 79.032 ppm (1C, C₃); 156.119 ppm (1C, C₂).

FD-(+)-ESI-MS, (m/z, [asign]): 175.2 [M+H]⁺ (C₈H₁₉N₂O₂⁺; PM: 175.1441 g/mol).

FTIR: 3363.98 cm⁻¹ (ν_{N-H}); 2941.61 cm⁻¹ (ν_{C-H} alifáticos); 1682.34 cm⁻¹ (ν_{C=O}); 1586.79 cm⁻¹ (δ_{N-H}); 1168.71 cm⁻¹ (ν_{C-N}).

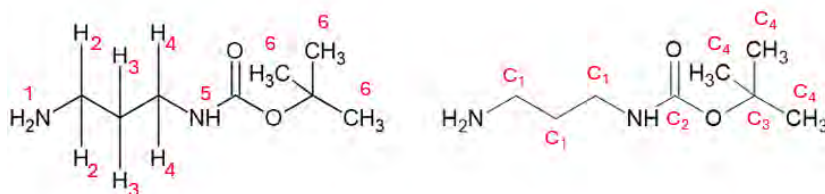


Figura 9: Estructuras enumeradas de protón y carbono de A.

4.2.2. Síntesis de **B**

Se colocan 300 mg de **A** (1.722 mmol) en un balón de 100 mL y se disuelven en 20 mL de metanol seco; luego, se agregan 180 μ L de salicilaldehído (1.720 mmol) y se deja reaccionar bajo agitación magnética durante 5 horas en reflujo hasta obtener una mezcla color amarillo intenso. Posteriormente, la mezcla se deja enfriar a temperatura ambiente, se le añaden 260 mg (6.887 mmol) de NaBH₄ y se deja reaccionar por 2 horas más a temperatura ambiente. Pasado el tiempo de reacción se agregan 20 mL de una solución de NaHCO₃ al 5% y se realiza una extracción por pera con acetato de etilo (3 x 20 mL), luego se lava la fase orgánica con una solución de salmuera (2 x 20 mL), se seca con Na₂SO₄ anhidro, se filtra y se rotaevapora hasta obtener un aceite color amarillo pálido. Rendimiento: 90%.

¹H-RMN (500 MHz, CDCl₃-d₁): 1.418 ppm (9H, s, H₁₂); 1.693 ppm (2H, m, H₉, 6.70 Hz); 2.678 ppm (2H, t, H₈, 6.70 Hz); 3.182 ppm (2H, m, H₁₀, 6.22 Hz); 3.971 ppm (1H, s, H₆); 4.615 ppm (1H, s, H₁₁); 6.753 ppm (1H, t, H₄, 7.42 Hz); 6.806 ppm (1H, d, H₂, 7.90 Hz); 6.962 ppm (1H, d, H₅, 7.42 Hz), 7.143 ppm (1H, t, H₃, 7.66 Hz).

¹³C-RMN (125 MHz, CDCl₃-d₁): 28.331 ppm (3C, C₁₂); 29.987 ppm (1C, C₉); 37.834 ppm (1C, C₁₀); 45.318 ppm (1C, C₈); 52.507 ppm (1C, C₇); 79.354 ppm (1C, C₁₃); 116.313 ppm (1C, C₂); 118.960 ppm (1C, C₄); 122.284 ppm (1C, C₆), 128.330 ppm (1C, C₅); 128.653 ppm (1C, C₃); 156.204 ppm (1C, C₁₁); 158.177 ppm (1C, C₁).

FD-(+)-ESI-MS, (m/z, [assign]): 281.2 [M+H]⁺ (C₁₅H₂₅N₂O₃⁺; PM: 281.1860 g/mol).

FTIR: 3320.58 cm⁻¹ (ν_{N-H} y ν_{O-H}); 3053.20 cm⁻¹ (ν_{C-H} aromáticos); 2976.15 cm⁻¹ (ν_{C-H} alifáticos); 2932.31 cm⁻¹ (ν_{C-H} alifáticos); 1687.04 cm⁻¹ (ν_{C=O}); 1511.84 cm⁻¹ (ν_{C-C} aromáticos); 1457.40 cm⁻¹ (ν_{C-C} aromáticos); 1251.72 cm⁻¹ (ν_{C-N}); 1165.12 cm⁻¹ (ν_{C-N}).

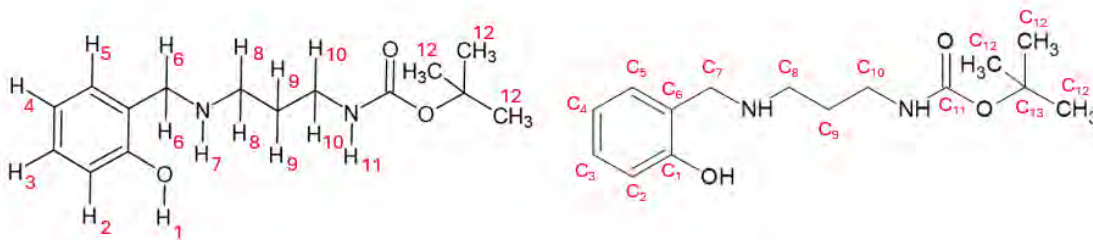


Figura 10: Estructuras enumeradas de protón y carbono de **B**.

4.2.3. Síntesis de **C**

Se colocan 200 mg de **B** (0.714 mmol) en un balón de 100 mL y se disuelven en 20 mL de etanol, después se añaden 3 mL de HCl cc (36.0 mmol) y se deja reaccionar bajo agitación magnética durante 2 horas a temperatura ambiente. Al finalizar la reacción se rotaevaporan los solventes a sequedad hasta obtener un líquido viscoso color rojo oscuro. Rendimiento: 99%.

¹H-RMN (500 MHz, DMSO-d₆): 2.031 ppm (2H, t, H₃, 6.50, 7.00 Hz); 2.880 ppm (2H, d, H₂, 5.17 Hz); 2.986 ppm (2H, s, H₄); 4.030 ppm (2H, s, H₆); 6.824 ppm (1H, t, H₈, 7.18 Hz); 6.989 ppm (1H, d, H₁₀, 8.04 Hz); 7.217 ppm (1H, t, H₉, 6.89 Hz); 7.426 ppm (1H, d, H₇, 6.61 Hz); 8.223 ppm (3H, s, H₁), 9.220 ppm (2H, s, H₅); 10.282 ppm (1H, s, H₁₁).

¹³C-RMN (125 MHz, DMSO-d₆): 23.517 ppm (1C, C₂); 36.109 ppm (1C, C₁); 43.677 ppm (1C, C₃); 44.911 ppm (1C, C₄); 115.475 ppm (1C, C₉); 118.025 ppm (1C, C₅); 118.998 ppm (1C, C₇); 130.348 ppm (1C, C₈); 131.622 ppm (1C, C₆); 156.060 ppm (1C, C₁₀).

FD-(+)-HR-MS, (m/z, [assign]): 181.1392 [M+H]⁺ (C₁₀H₁₇N₂O⁺; PM: 181.1335 g/mol).

FTIR: 3395.60 cm⁻¹ (ν_{O-H}); 2952.33 cm⁻¹ (ν_{N⁺-H}); 2904.59 cm⁻¹ (ν_{N⁺-H}); 2797.28 cm⁻¹ (ν_{N⁺-H}); 2761.87 cm⁻¹ (ν_{N⁺-H}); 2070.18 cm⁻¹ (ν_{N⁺-H}); 1615.13 cm⁻¹ (δ_{N⁺-H}); 1597.84 cm⁻¹

(δ_{N^+-H}); 1584.21 cm^{-1} (δ_{N^+-H}); 1492.16 cm^{-1} (ν_{C-C} aromáticos); 1397.95 cm^{-1} (ν_{C-C} aromáticos).



Figura 11: Estructuras enumeradas de protón y carbono de C.

4.2.4. Síntesis de D

Se colocan 200 mg (0.876 mmol) de resveratrol en un matraz Schlenk de 80 mL con un imán agitador, luego, se purga con N_2 dos veces y se agregan 25 mL de acetonitrilo previamente destilado junto con 0.6 mL (7.75 mmol) de DMF gota a gota. Después, se agita durante 15 minutos hasta obtener una solución color beige. En este punto, se coloca el Schlenk en un baño de hielo con sal a, aproximadamente, -10°C y haciendo uso de una jeringa se agregan 0.2 mL (2.33 mmol) de cloruro de oxalilo muy lentamente. Al terminar la adición, se retira el baño de hielo y se deja reaccionar por 5 horas. Posteriormente, se agregan 15 mL de agua desionizada fría al Schlenk y se deja reaccionar por un mínimo de 12 horas a 50°C . Se extrae el producto con acetato de etilo (3 x 20 mL) por medio de una separación por pera y luego se lava la fase orgánica con agua desionizada (2 x 20 mL) y con una solución de salmuera (1 x 20 mL). Se seca la fase orgánica con Na_2SO_4 anhidro, se filtra en un balón de 250 mL y se rotaevapora. El producto final puede ser purificado por recristalización mediante un sistema metanol y agua, o también separado por columna cromatográfica de sílica gel con una fase móvil de acetato de etilo y hexano 3:7. Rendimiento: 50%.

$^1\text{H-RMN}$ (500 MHz, DMSO-d_6): 6.208 ppm (1H, d, H₈, 2.19 Hz); 6.615 ppm (1H, d, H₁₀, 2.13 Hz); 6.778 ppm (2H, d, H₂, 8.64 Hz); 7.012 ppm (1H, d, H₄, 16.00 Hz);

7.490 ppm (2H, d, H₃, 8.59 Hz); 7.692 ppm (1H, d, H₅, 16.00 Hz); 9.677 ppm (1H, s, H₁); 10.265 ppm (1H, s, H₆); 10.736 ppm (1H, s, H₁), 12.109 ppm (1H, s, H₁).

FD(-)-ESI-MS, (m/z, [assign]): 255.0 [M-H]⁻ (C₁₅H₁₁O₄⁻; PM: 255.0663 g/mol).

FTIR: 3279.94 cm⁻¹ (ν_{O-H}); 3019.24 cm⁻¹ (ν_{C-H} aromáticos); 2918.60 cm⁻¹ (ν_{C-H} aromáticos); 2704.73 cm⁻¹ (ν_{C-H} aromáticos); 1633.54 cm⁻¹ (ν_{C=O}); 1579.41 cm⁻¹ (ν_{C=C}); 1517.64 cm⁻¹ (ν_{C-C} aromáticos); 1395.49 cm⁻¹ (ν_{C-C} aromáticos).

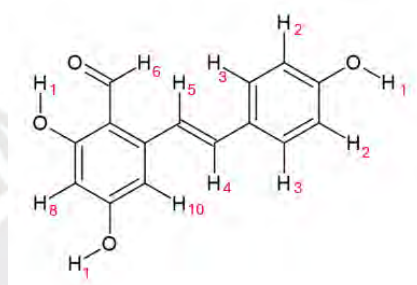


Figura 12: Estructura enumerada de protón de **D**.

4.2.5. Síntesis de **L**

Se agregan 100 mg (0.395 mmol) de **C** en un balón de 100 mL y se disuelven en 30 mL de metanol, después se añaden 109 μL (0.786 mmol) de trietilamina y se agita durante 15 minutos. Luego, se agregan 102 mg (0.398 mmol) de **D** y se deja reaccionar bajo agitación magnética en reflujo durante 24 horas, hasta observar una solución turbia color naranja. Pasado el tiempo de reacción, la mezcla se rotaevapora a sequedad hasta obtener un crudo color marrón anaranjado, que se puede purificar por columna cromatográfica de sílica gel con una fase móvil de acetato de etilo y metanol 9:1. Rendimiento: 40%.

¹H-RMN (500 MHz, DMSO-d₆): 1.813 ppm (2H, m, H₁₂, 6.86 Hz); 2.608 ppm (2H, t, H₁₁, 6.86 Hz); 3.623 ppm (2H, t, H₁₃, 6.31 Hz); 3.823 ppm (2H, s, H₁₅); 6.073 ppm (1H, d, H₈, 2.06 Hz); 6.462 ppm (1H, d, H₆, 2.03 Hz); 6.699 ppm (1H, t, H₁₇, 7.47 Hz); 6.705 ppm (1H, d, H₁₉, 8.10 Hz); 6.794 ppm (2H, d, H₂, 8.52 Hz), 6.921 ppm (1H, d, H₄,

15.91 Hz); 7.049 ppm (1H, t, H₁₈, 7.49 Hz); 7.080 ppm (1H, d, H₁₆, 7.49 Hz); 7.409 ppm (1H, d, H₅, 15.94 Hz); 7.492 ppm (2H, d, H₃, 8.53 Hz); 8.853 ppm (1H, s, H₁₀).

¹³C-RMN (125 MHz, DMSO-d₆): 30.191 ppm (1C, C₁₅); 45.567 ppm (1C, C₁₄); 50.187 ppm (1C, C₁₇); 53.509 ppm (1C, C₁₆); 102.423 ppm (1C, C₁₀); 103.622 ppm (1C, C₈); 108.065 ppm (1C, C₁₈); 115.341 ppm (1C, C₂₂); 115.484 ppm (2C, C₂); 118.436 ppm (1C, C₂₀); 120.907 ppm (1C, C₆); 123.721 ppm (1C, C₄); 127.918 ppm (1C, C₂₁); 127.941 ppm (1C, C₇); 128.428 ppm (2C, C₃); 128.698 ppm (1C, C₁₉); 132.076 ppm (1C, C₅); 141.246 ppm (1C, C₁₂); 157.327 ppm (1C, C₂₃); 157.725 ppm (1C, C₁); 161.944 ppm (1C, C₁₃); 162.327 ppm (1C, C₉); 168.113 ppm (1C, C₁₁).

FD-(+)-HR-MS, (m/z, [assign]): 419.1902 [M+H]⁺ (C₂₅H₂₇N₂O₄⁺; PM: 419.1965 g/mol).

FTIR: 2932.90 cm⁻¹ (ν_{C-H} aromáticos y alifáticos); 1627.59 cm⁻¹ (ν_{C=N}); 1511.82 cm⁻¹ (ν_{C-C} aromáticos); 1456.08 cm⁻¹ (ν_{C-C} aromáticos); 1239.95 cm⁻¹ (ν_{N-C}); 1168.96 cm⁻¹ (ν_{N-C}).

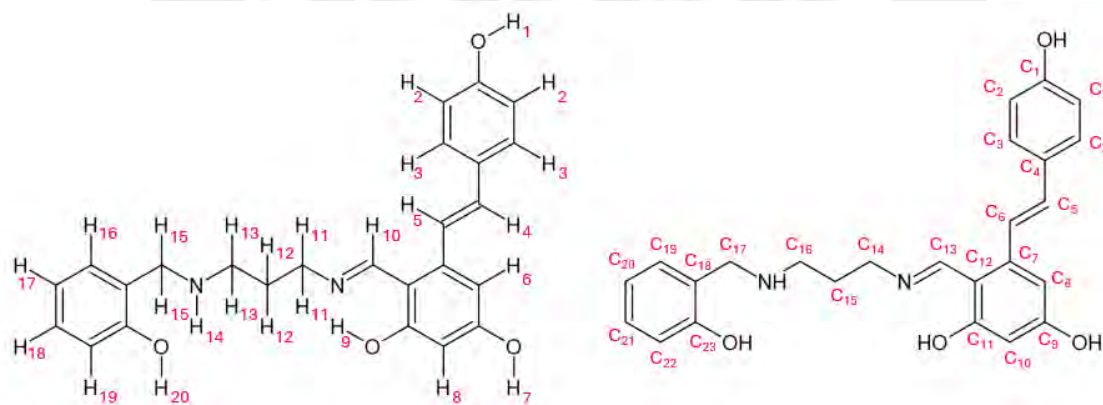


Figura 13: Estructuras enumeradas de protón y carbono de **L**.

4.2.6. Síntesis de **CuL**

Se agregan 100 mg (0.239 mmol) de **L** en un balón de 100 mL junto con 25 mL de metanol, luego se añaden 2.4 mL de una solución metanólica de NaOH 0.1 M y se agita

con un magneto hasta disolución completa. Paralelamente, se disuelven 48.0 mg (0.240 mmol) de acetato de cobre monohidratado en 20 mL de metanol, se adiciona dicha mezcla al balón de reacción y se deja reaccionar durante 3 horas bajo agitación magnética y en reflujo con un monitoreo constante por TLC. Después de las 3 horas se rotaevapora el contenido del balón a la mitad, se agregan 10 mL de agua desionizada y se deja reposar en una nevera durante 12 horas. Pasado este tiempo se obtiene una mezcla muy turbia con un precipitado color marrón verdoso, el cual es filtrado y luego secado en una línea de vacío. Rendimiento 85%.

FD-(+)-HR-MS, (m/z, [assign]): 480.1108 [M+H]⁺ (C₂₅H₂₅N₂O₄Cu⁺; PM: 480.1105 g/mol).

FTIR: 3232.20 cm⁻¹ (ν_{O-H}); 2926.32 cm⁻¹ (ν_{C-H} aromáticos y alifáticos); 1594.60 cm⁻¹ (ν_{C=C}); 1562.19 cm⁻¹ (ν_{C=N}); 1512.25 cm⁻¹ (ν_{C-C} aromáticos); 1449.09 cm⁻¹ (ν_{C-C} aromáticos).

5. Resultados y discusión

5.1. Síntesis y caracterización de **A**

5.1.1. Síntesis

La síntesis de **A** se enfoca en la protección exclusiva de uno de los grupos amino del reactivo 1,3-diaminopropano. Dicha protección es fundamental, ya que permite que cada uno de los grupos amino del reactivo reaccione con dos subunidades aromáticas diferentes y culmine en la formación de un ligando con características asimétricas. Por ello, para lograr que uno de los grupos amino reaccione selectivamente es necesario proteger al otro, lo cual se consigue mediante un control estequiométrico del grupo protector en la reacción de protección, en este caso se decidió emplear el dicarbonato de di-tert-butilo (Boc_2O) como agente protector debido a su gran efectividad. Dicha reacción es comúnmente realizada a temperatura ambiente en solventes apróticos como cloroformo o diclorometano y genera como único producto la diamina protegida con rendimientos bastante elevados.³⁰⁻³²

El mecanismo de dicha reacción (Figura 14) comienza con el ataque nucleofílico de uno de los nitrógenos de la diamina hacia uno de los grupos carbonilo del Boc_2O para formar un intermediario, que luego elimina un grupo carbonato generando dos subproductos: el CO_2 y el anión tert-butóxido. Finalmente, el nitrógeno de la diamina es desprotonado por el tert-butóxido para producir la diamina semi-protegida **A** y al subproducto tert-butanol.

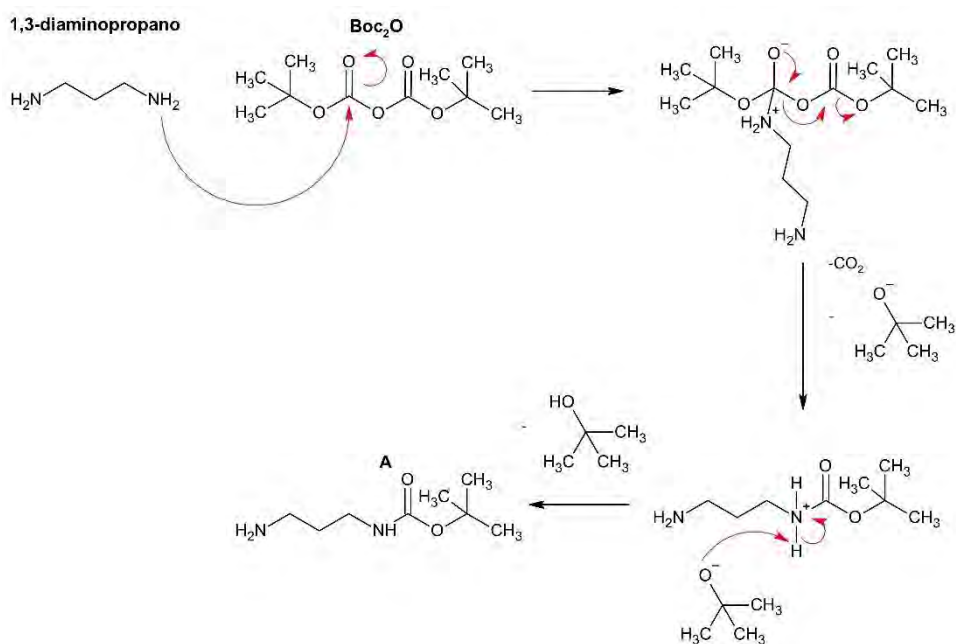


Figura 14: Mecanismo propuesto para la formación del compuesto **A**

Ensayos iniciales de este paso sintético demostraron que es indispensable proteger a uno de los grupos amina del 1,3-diaminopropano si se quiere obtener una sustitución asimétrica, debido a la alta reactividad que dicha molécula presenta. Por ejemplo, se intentó hacer reaccionar a esta diamina con un número de aldehídos fenólicos con el objetivo de que ambos reactivos reaccionen en una relación 1:1. Es decir, que solo uno de los grupos amina reaccione sin que el otro esté protegido. En dichos ensayos, se modificaron las condiciones de temperatura, la cantidad de equivalentes de 1,3-diaminopropano y el tiempo de reacción. Sin embargo, en todos los casos se observó que la diamina y el aldehído fenólico reaccionaban en una relación 1:2, formando un producto sustituido simétricamente. Por ello, se modificó la ruta sintética y se optó por proteger uno de los grupos amina con el Boc₂O aprovechando el alto rendimiento de dicha reacción.

Para la síntesis de **A**, se utilizó un exceso de 35 equivalentes de 1,3-diaminopropano por cada equivalente de Boc₂O, para promover que solo uno de los -NH₂ reaccione; de igual manera, la adición del reactivo protector se realizó en un baño de hielo a 0 °C muy

lentamente para controlar la reactividad. Pasado el tiempo de reacción, se obtuvo una mezcla turbia de tonalidad blanquecina que estaba compuesta por tres sustancias principales: el 1,3-diaminopropano remanente, el subproducto *t*-butanol y el compuesto **A**. Las dos primeras son altamente solubles en agua, mientras que la última no, por ello se realizó una extracción líquido-líquido para separar al intermediario **A** y obtenerlo con un índice de pureza bastante elevado sin mayor tratamiento. La reacción de formación de **A** mantuvo un rendimiento de aproximadamente el 95% respecto del reactivo limitante Boc_2O . Posteriormente, el producto se secó en una línea de vacío por varias horas y se caracterizó.

5.1.2. Caracterización

5.1.2.1. Espectroscopia infrarroja

El producto **A** fue analizado mediante espectroscopia FITR y el espectro correspondiente junto con su estructura molecular se muestran en la Figura 15. Se observa una señal mediana a 3363.98 cm^{-1} producida por el estiramiento de los enlaces N-H de los grupos amina. Asimismo, a 1586.79 cm^{-1} se encuentra un pico mediano generado por la flexión de los dos enlaces N-H de la amina primaria.

Los enlaces C-H presentes en la cadena alifática y en los grupos metilo se estiran y producen un grupo de señales a 2941.61 cm^{-1} muy representativas de los grupos alcanos. De igual manera, a 1168.71 cm^{-1} se aprecia una señal bastante intensa que es producida por el estiramiento de los enlaces C-N de las aminas. Con respecto al grupo carbonilo, se observa una señal muy intensa a 1682.34 cm^{-1} característica del estiramiento del enlace C=O.

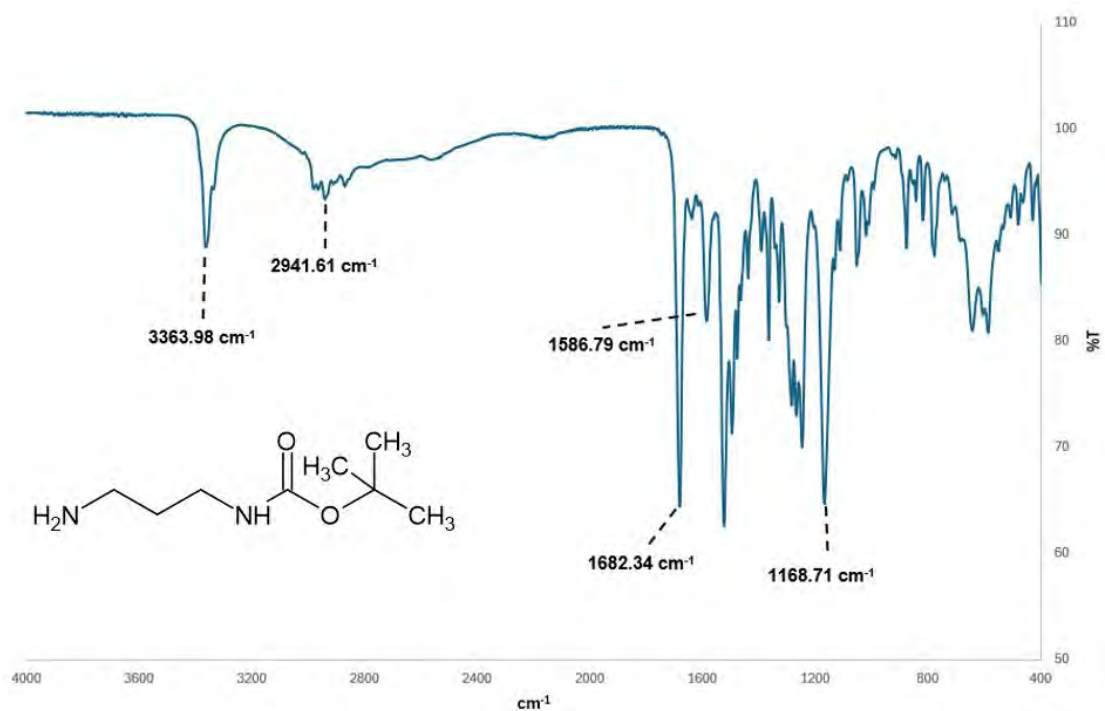


Figura 15: Espectro FTIR del compuesto A

5.1.2.2. Espectroscopia de resonancia magnética nuclear

El compuesto A también fue analizado por RMN y el espectro ¹H-RMN correspondiente junto con su estructura molecular se presenta en la Figura 16. En este se observa una señal singulete a 1.412 ppm que integra por nueve protones correspondiente a los grupos metilo del grupo protector Boc (H₆). Asimismo, a 1.589 ppm se aprecia una señal multiplete correspondiente a los dos hidrógenos H₃, los cuales limitan con cuatro protones vecinos y, en consecuencia, generan dicha multiplicidad. Se observan también otras dos señales a 2.737 y 3.184 ppm que corresponden a los hidrógenos H₂ y H₄, respectivamente. Ello se concluye debido a que el primer pico es un triplete correspondiente a la interacción de H₂ con H₃, mientras que el segundo pico es un multiplete producido por la interacción de H₄ con H₅ y H₃. A 4.919 ppm se observa una señal singulete muy ancha correspondiente al hidrógeno del grupo amina H₅. Por otro lado, las señales H₁ de la amina primaria no se observan, posiblemente debido al constante intercambio que estos hidrógenos presentan con el medio, lo cual provoca que no sean detectables.

De igual manera, en la Figura 17 se aprecia el espectro de ^{13}C -RMN de **A**, en el cual se identifican seis señales de interés. La primera señal mantiene un desplazamiento de 156.119 ppm correspondiente al carbono C_2 que, al pertenecer a un grupo carbamato, se encuentra bastante desprotegido. Asimismo, a 79.032 ppm se encuentra la señal del C_3 que también se encuentra relativamente desprotegida debido al enlace simple que mantiene con el oxígeno. A 33.266, 38.331 y 39.545 ppm se ubican las señales de los carbonos C_1 correspondientes a la cadena alifática y a 28.370 ppm se muestra el pico correspondiente a los carbonos C_4 de los grupos metilo.



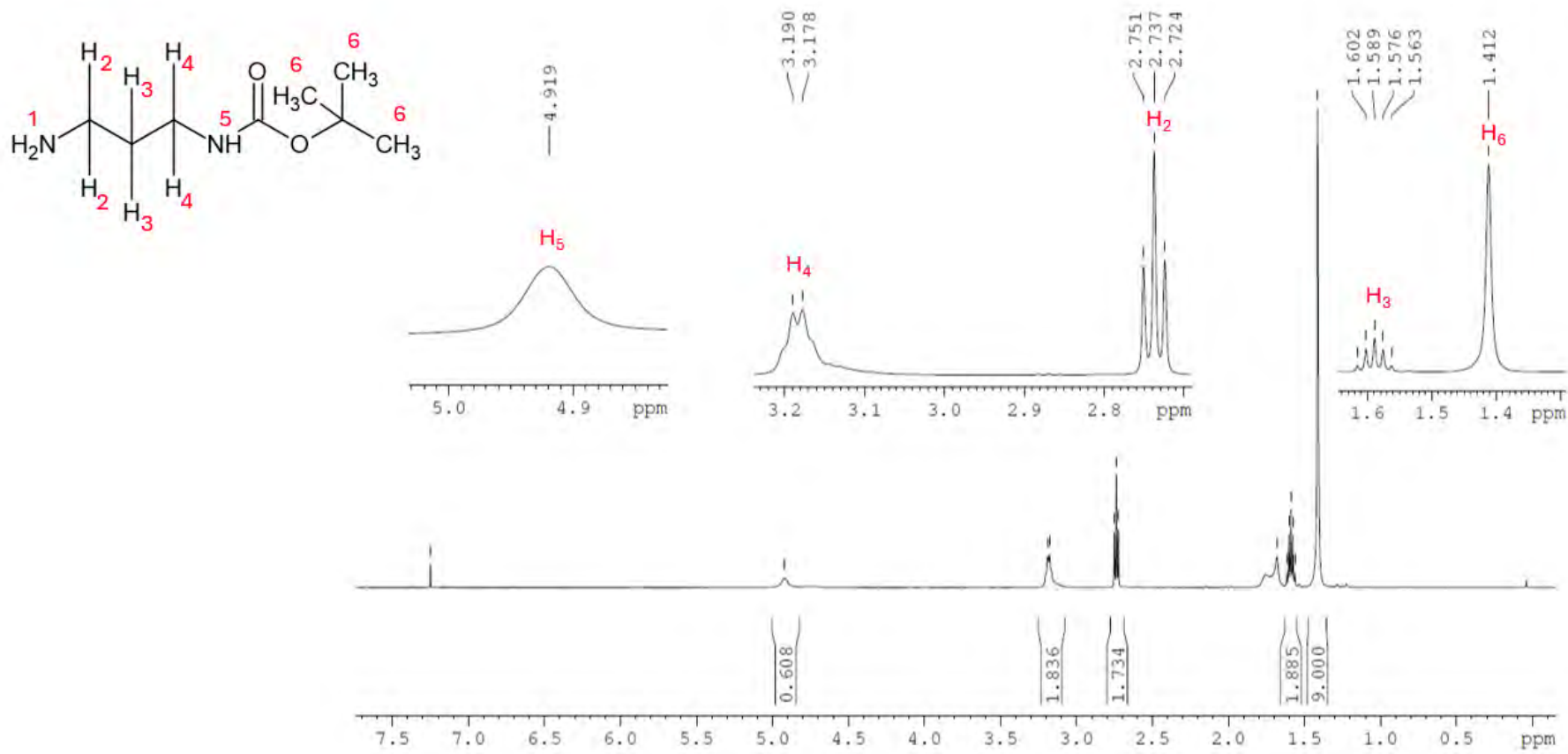


Figura 16: Espectro ^1H -RMN del compuesto A en $\text{CDCl}_3\text{-d}_1$.

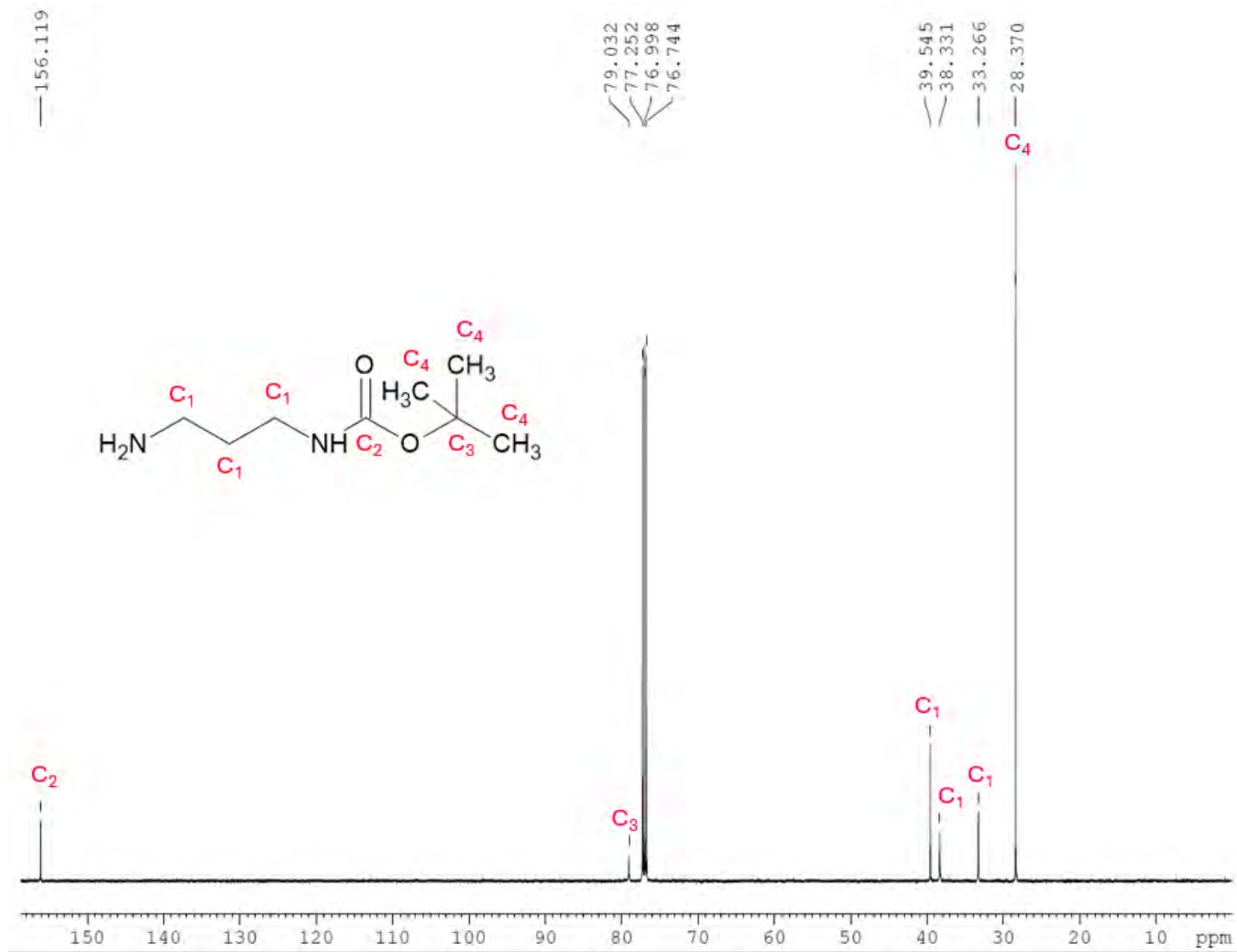


Figura 17: Espectro ^{13}C -RMN del compuesto A en $\text{CDCl}_3\text{-d}_1$.

5.1.2.3. Espectrometría de masas

El compuesto **A** también fue caracterizado por espectrometría de masas y su espectro correspondiente se muestra en la Figura 18. Dicho compuesto tiene una fórmula molecular de $C_8H_{18}N_2O_2$ y se espera que su ion $[M+H]^+$ tenga un peso de 175.1441 Da.

En dicho espectro se observa una señal bastante intensa a 175.2 m/z, la cual coincide con el peso calculado para el ion $[M+H]^+$. De igual manera, se observa otro pico bastante intenso a 119.2 m/z que pertenecería a un fragmento de **A** generado a partir del rompimiento entre el enlace del oxígeno con el sustituyente tert-butil. Ambas señales son significativamente más intensas que otros picos minoritarios que aparecen en el espectro, indicando que el compuesto **A** es el producto mayoritario. Por ello, a partir de las pruebas de caracterización realizadas se afirma que el compuesto **A** mantiene la estructura propuesta.

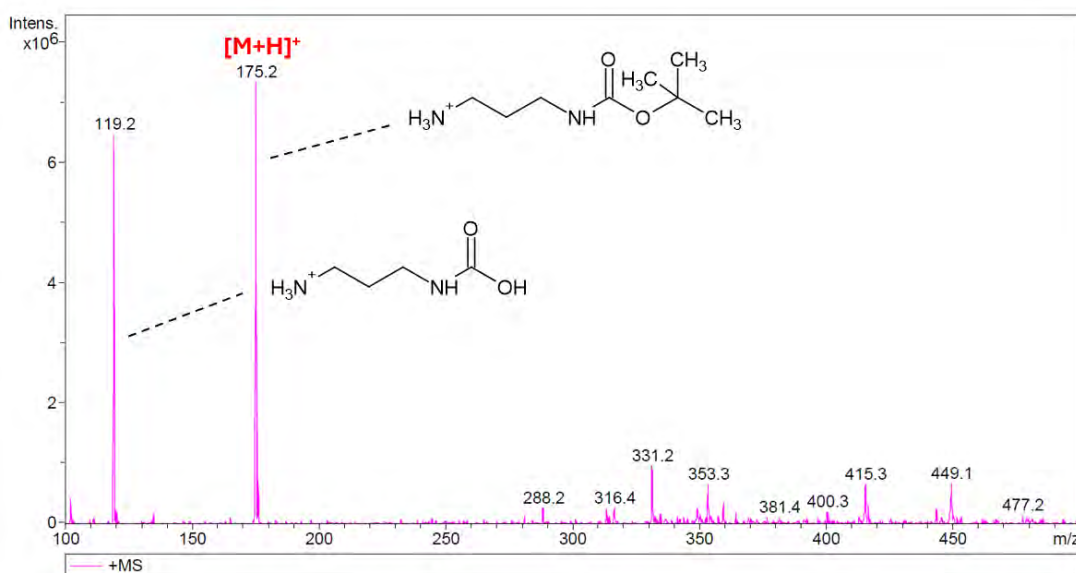


Figura 18: Espectro de masas del compuesto **A**

5.2. Síntesis y caracterización de **B**

5.2.1. Síntesis

La segunda etapa de esta ruta sintética fue la reacción entre el salicilaldehído y el intermediario **A** para la formación del compuesto **B** que representa la primera mitad del ligando asimétrico. Los reactivos de salicilaldehído y **A** reaccionaron mediante una condensación nucleofílica para formar un enlace C=N que posteriormente fue reducido a un enlace simple. La reacción entre el salicilaldehído y **A** permitió generar una base de Schiff que integra una de las estructuras aromáticas deseadas para el ligando tetradentado. Asimismo, fue fundamental reducir la base de Schiff formada, ya que la síntesis posterior del intermediario **C** consiste en una reacción de desprotección para eliminar al grupo Boc y liberar al grupo amino de **B**. La síntesis de **C** se lleva a cabo en un medio fuertemente ácido que puede degradar al enlace imina de la base de Schiff y romper la estructura de la molécula. Por ello, fue importante reducir dicho enlace para que soporte las condiciones ácidas de la reacción posterior.

Para la síntesis de **B** se hizo reaccionar el grupo amina libre del intermediario **A** con el salicilaldehído. El mecanismo de formación de **B** (Figura 19) comienza con el ataque nucleofílico del grupo amina hacia el carbonilo del salicilaldehído para formar un intermediario carbinolamina, un intermediario inestable que posee un grupo hidroxilo capaz de protonarse en un medio ligeramente ácido, promoviendo la eliminación de una molécula de agua y la formación de un enlace imina. Se recomienda que el pH no sea menor a 4, ya que ello podría generar la protonación de la amina y, en consecuencia, evitar la formación del intermediario carbinolamina.⁴¹ Posteriormente, la imina formada fue reducida con NaBH₄ para generar un enlace simple que cumplirá un rol importante en la síntesis del intermediario **C**.

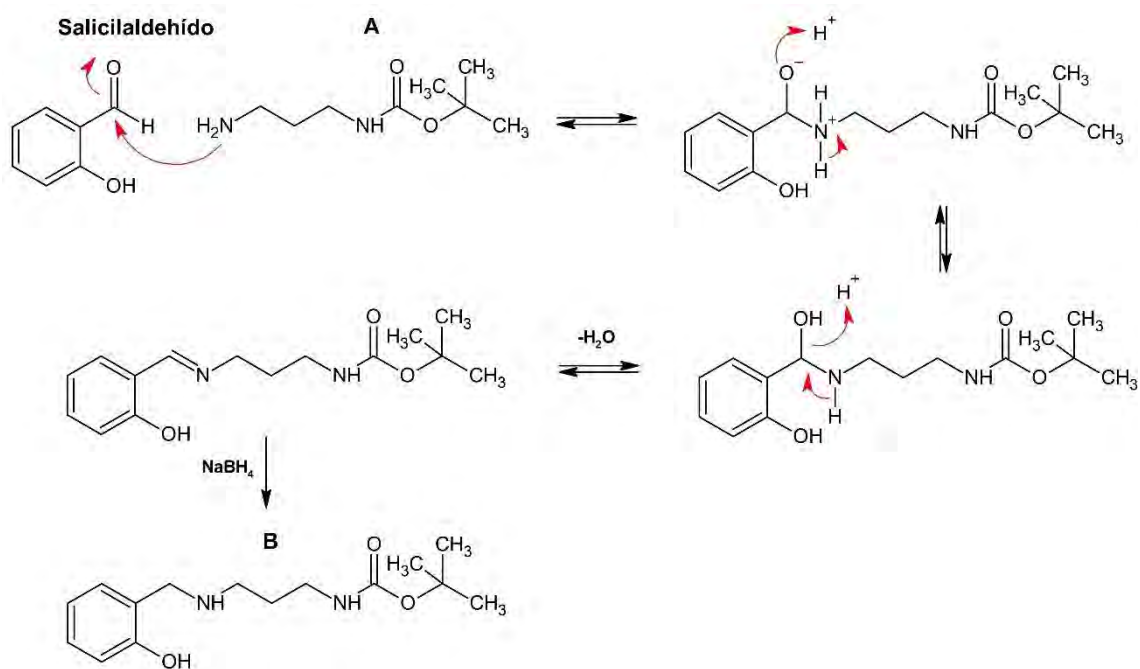


Figura 19: Mecanismo propuesto para la formación del compuesto **B**

La formación de la base de Schiff entre **A** y el salicilaldehído es una reacción de equilibrio químico bastante favorable que prácticamente no presentó ninguna dificultad, ya que el grupo protector Boc garantizó la formación de un único enlace imina, generando una molécula asimétrica.

Se aceleró la velocidad de reacción haciendo uso de un baño de silicona a 70 °C durante 5 horas y lo que se observó fue que la mezcla adoptó un color amarillo muy intenso. Asimismo, el seguimiento por TLC realizado durante la reacción mostró que, después de 5 horas, la concentración del producto imina se mantenía constante, por ello, pasado este tiempo, se dejó enfriar la reacción y se agregó el NaBH₄ para la fase de reducción. Dicha fase tampoco presentó ninguna dificultad, ya que el NaBH₄ reduce muy rápida y selectivamente al enlace imina. La única consideración es que el solvente utilizado debe secarse con tamices moleculares, ya que la presencia de agua puede descomponer al NaBH₄ y afectar significativamente el rendimiento de la reacción. Posteriormente, se agregó una solución de NaHCO₃ al 5% para neutralizar el NaBH₄ remanente y, por medio

de una extracción líquido-líquido, se aisló al intermediario **B** con un rendimiento e índice de pureza bastante elevados. El producto **B** fue secado en una línea de vacío para su posterior caracterización.

5.2.2. Caracterización

5.2.2.1. Espectroscopia infrarroja

El compuesto **B** fue caracterizado por espectroscopia FTIR y el espectro correspondiente se presenta en la Figura 20 junto con la estructura molecular de **B**. Asimismo, se aprecia el mismo espectro comparado con el del compuesto **A** en la Figura 21.

Los grupos amina e hidroxilo se muestran a través de la señal de 3320.58 cm^{-1} , la cual es producto de la superposición de las vibraciones de estiramiento de los enlaces N-H y O-H. Ello se concluye, debido a que en la Figura 21 se observa que el desplazamiento de dicha señal es muy similar al del pico $\nu_{\text{N-H}}$ de la molécula **A**, solo que el estiramiento del enlace O-H genera que la señal de 3320.58 cm^{-1} sea significativamente más ancha. De igual manera, el estiramiento del OH mantiene un número de onda menor a su rango característico de $3500\text{-}3700\text{ cm}^{-1}$, debido a que las interacciones intermoleculares de puente de hidrógeno entre el OH y las aminas generan una reducción en su desplazamiento.

De la misma forma, se aprecia un pico a 3053.2 cm^{-1} producido por el estiramiento de los enlaces C-H del anillo aromático. Asimismo, el estiramiento de los enlaces C-C de dicho anillo generan nuevas bandas entre 1457.40 y 1511.84 cm^{-1} que no están presentes en el espectro FTIR de **A**.

El estiramiento de los enlaces C-H de la cadena alifática y de los grupos metilo generan dos picos a 2932.31 y 2976.15 cm^{-1} , característicos de las estructuras alifáticas. De igual manera, se aprecian dos señales muy fuertes a 1165.12 y 1251.72 cm^{-1} que corresponden

al estiramiento de los enlaces C-N. Asimismo, el grupo carbonilo mantiene una señal muy intensa a 1687.04 cm^{-1} generada por el estiramiento del enlace C=O.

En general, en la Figura 21 se observa que los espectros FTIR de los compuestos **A** y **B** mantienen ciertas diferencias entre sí, como el ensanchamiento de la señal 3320.58 cm^{-1} producido por el grupo hidroxilo y la aparición de nuevas bandas entre 1457.40 y 1511.24 cm^{-1} generadas por los enlaces C-C del anillo aromático. Sin embargo, el resto de señales mantienen desplazamientos e intensidades muy similares entre sí, lo cual es de esperarse, ya que los compuestos mantienen muchas similitudes, excepto por la presencia del grupo fenólico en **B**.

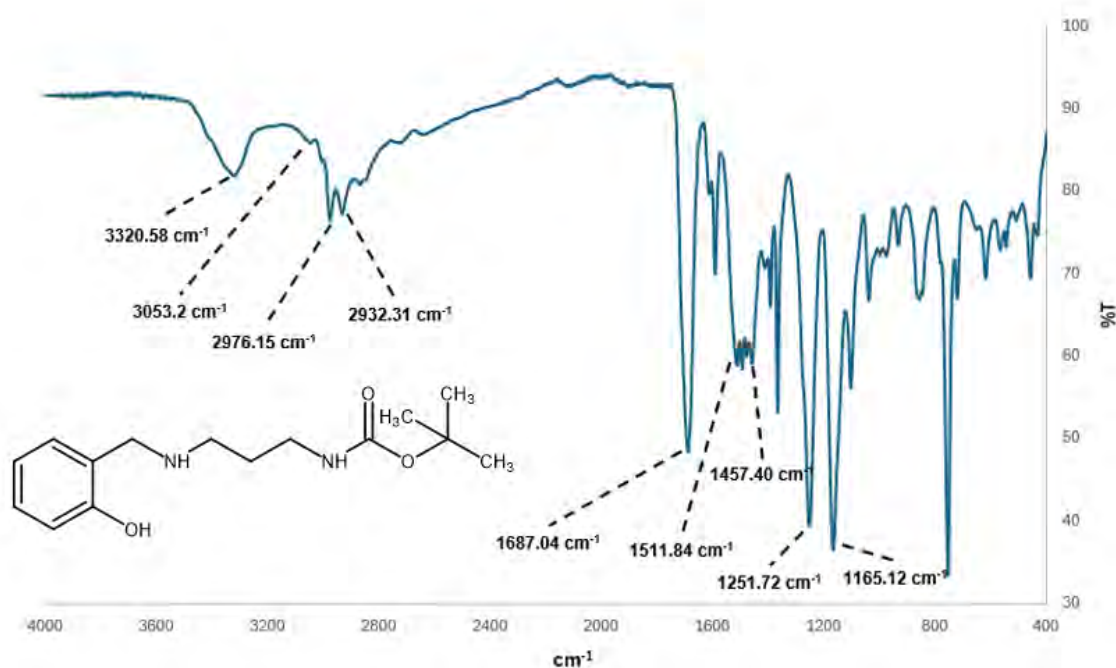


Figura 20: Espectro FTIR del compuesto **B**

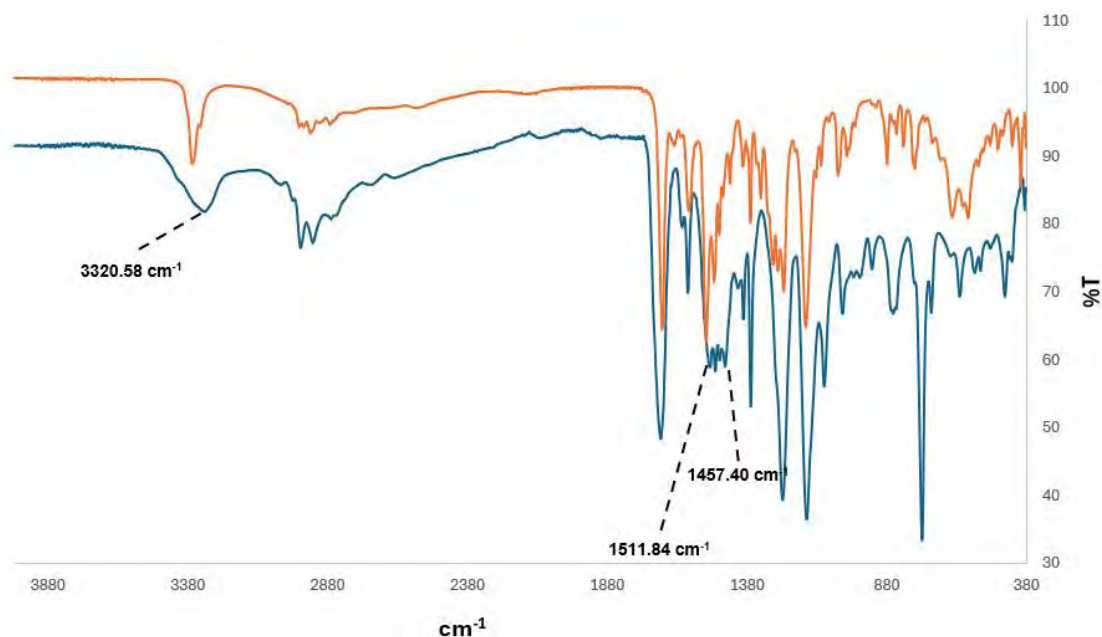


Figura 21: Superposición de los espectros FTIR de los compuestos **A** (naranja) y **B** (azul)

5.2.2.2. Espectroscopia de resonancia magnética nuclear

El producto **B** también fue estudiado por RMN y su espectro ^1H -RMN se muestra en la Figura 22 junto con su estructura molecular. En la zona correspondiente a las señales aromáticas del anillo se pueden identificar dos picos a 6.753 y 7.143 ppm que son dos tripletes que corresponden a los protones H_4 y H_3 , respectivamente. El primero se encuentra protegido por el grupo $-\text{OH}$ ubicado en posición *para*, mientras que el segundo al estar en posición *meta* se encuentra desprotegido, generando una pequeña diferencia en los desplazamientos de ambos hidrógenos. Asimismo, las señales a 6.806 y 6.962 ppm también son semejantes entre sí y pertenecen a los protones H_2 y H_5 , respectivamente. La diferencia de desplazamiento en ambas señales se debe a que H_2 se encuentra protegido por el grupo $-\text{OH}$ en posición *orto*, a diferencia de H_5 que al estar en posición *meta* se encuentra desprotegido.

Por otro lado, la señal singulete y ancha ubicada a 4.615 ppm pertenece al hidrógeno H_{11} del grupo carbamato, mientras que la señal singulete a 3.971 ppm, que integra por dos protones, corresponde a los hidrógenos H_6 que se obtienen a partir de la reducción del

enlace imina en el segundo paso de la síntesis de **B**, lo que confirmaría que la reducción con NaBH₄ fue exitosa. Además, se propone que los protones de los grupos fenol y amina, H₁ y H₇ respectivamente, podrían estar intercambiándose entre sí, debido a la cercanía que mantienen ambos átomos, lo cual provoca que dichas señales no sean visibles.

Las señales a 1.693, 2.678 y 3.182 ppm integran todas para dos protones y corresponden a H₉, H₈ y H₁₀, respectivamente, que, al pertenecer a la cadena alifática, mantienen desplazamientos mucho menores al resto de señales. El pico de 1.418 ppm integra por nueve y corresponde a los protones H₁₂ que se ubican en los metilos del grupo protector. Dicha señal confirma que el grupo amino se mantuvo protegido durante la reacción de formación del intermediario **B**.

Por otro lado, en la Figura 23 se aprecia el espectro ¹³C-RMN del intermediario **B** junto con su estructura molecular enumerada. La asignación de las señales en este espectro se realizó con el experimento bidimensional HSQC (¹H-¹³C) del compuesto (Anexos 1 y 2). Las señales a 122.284 y 158.177 ppm corresponden a los carbonos cuaternarios C₆ y C₁, respectivamente. La señal de C₁ se encuentra desplazada hacia campos más bajos que C₆ debido al fuerte efecto inductivo del grupo hidroxilo. Asimismo, el pico a 156.204 ppm pertenece al carbono C₁₁ del grupo funcional carbamato y la señal a 79.354 ppm le pertenece al carbono C₁₃.

Asimismo, a partir de las interacciones C-H observadas y de las señales de protón previamente identificadas se puede concluir que los picos 116.313, 118.960, 128.330 y 128.653 ppm corresponden a los carbonos aromáticos C₂, C₄, C₅ y C₃, respectivamente. Las señales de 29.987, 37.834 y 45.318 ppm pertenecen a los carbonos de la cadena alifática C₉, C₁₀, C₈, respectivamente. Por otro lado, la señal de 52.507 ppm corresponde al C₇ y la de 28.331 ppm pertenece a los carbonos C₁₂ de los grupos metilo.

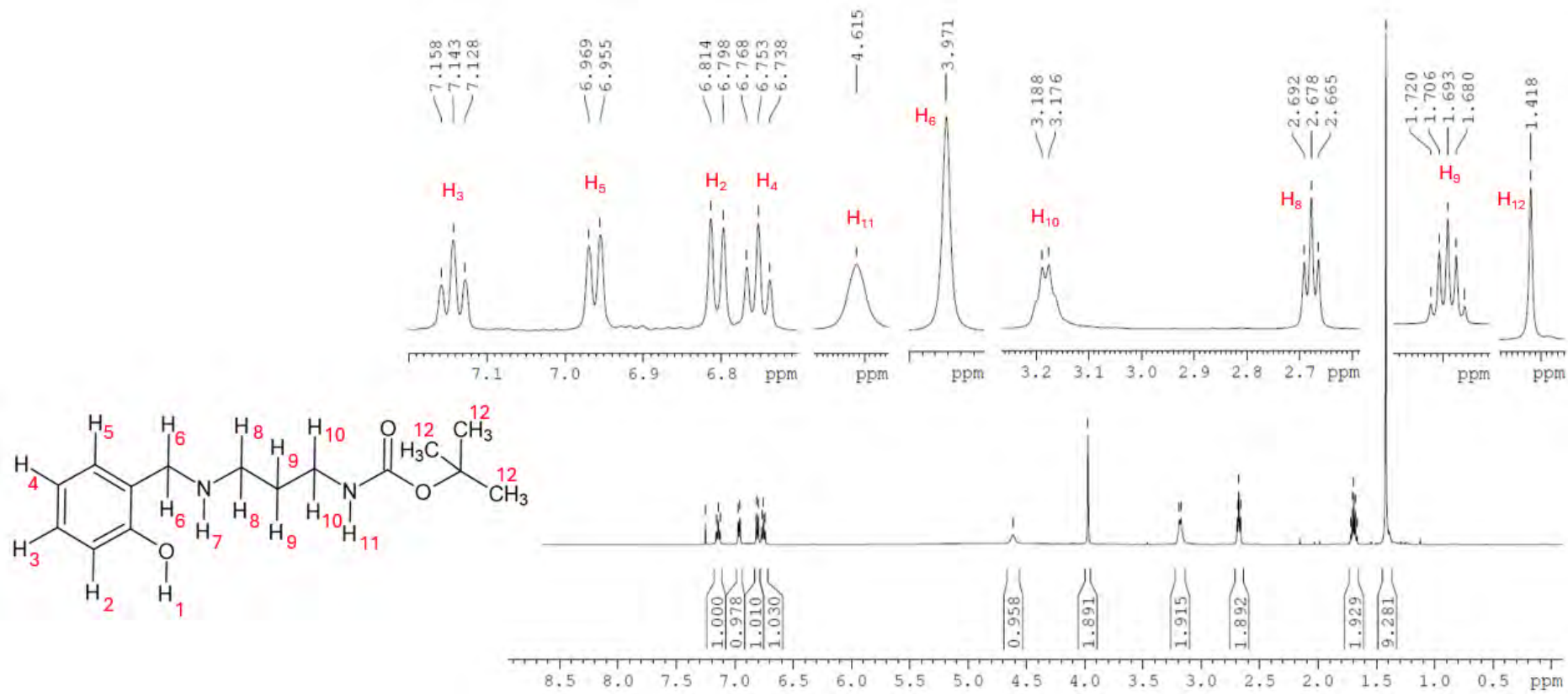


Figura 22: Espectro ^1H -RMN del compuesto **B** en $\text{CDCl}_3\text{-d}_1$.

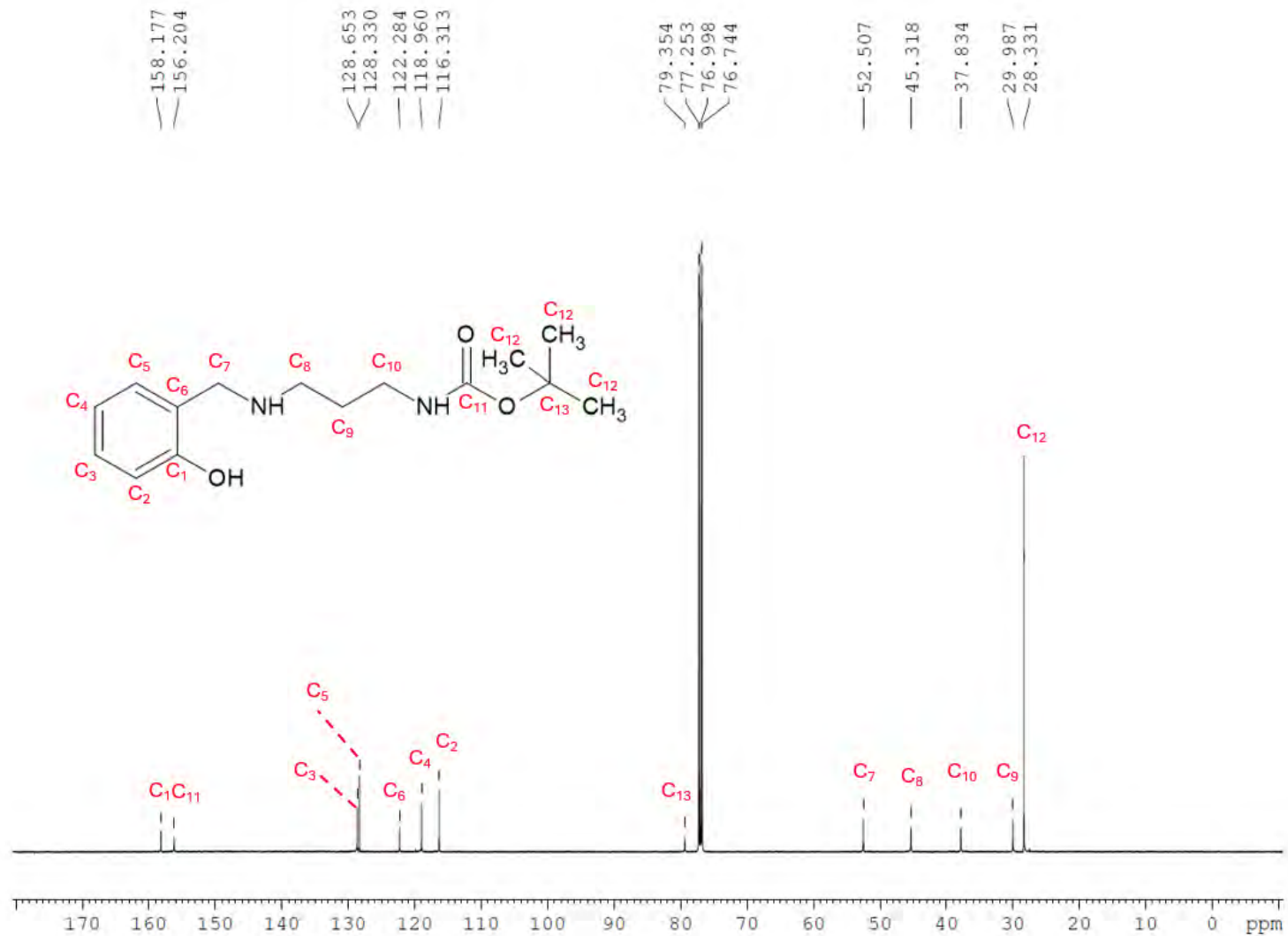


Figura 23: Espectro ¹³C-RMN del compuesto **B** en CDCl₃-d₁.

5.2.2.3. Espectrometría de masas

El intermediario **B** también fue analizado por espectrometría de masas y su espectro correspondiente se muestra en la Figura 24. Asimismo, **B** tiene una fórmula molecular de $C_{15}H_{24}N_2O_3$ y se espera que el ion $[M+H]^+$ tenga una masa de 281.1860 Da.

En el espectro se aprecia una señal muy intensa a 281.2 m/z, correspondiente al ion $[M+H]^+$; la masa detectada es muy similar a la calculada, indicando que el compuesto **B** es el producto mayoritario. Asimismo, se observa una pequeña señal a 225.2 m/z que pertenece a un fragmento de **B** generado cuando el enlace del oxígeno con el grupo tert-butil se rompe.

Se observan otras señales minoritarias muy poco intensas, lo cual indica que el producto **B**, aparte de ser el producto mayoritario, también se encuentra con un índice de pureza bastante elevado. Por ello, a partir de las pruebas de caracterización se afirma que el compuesto **B** posee la estructura deseada.

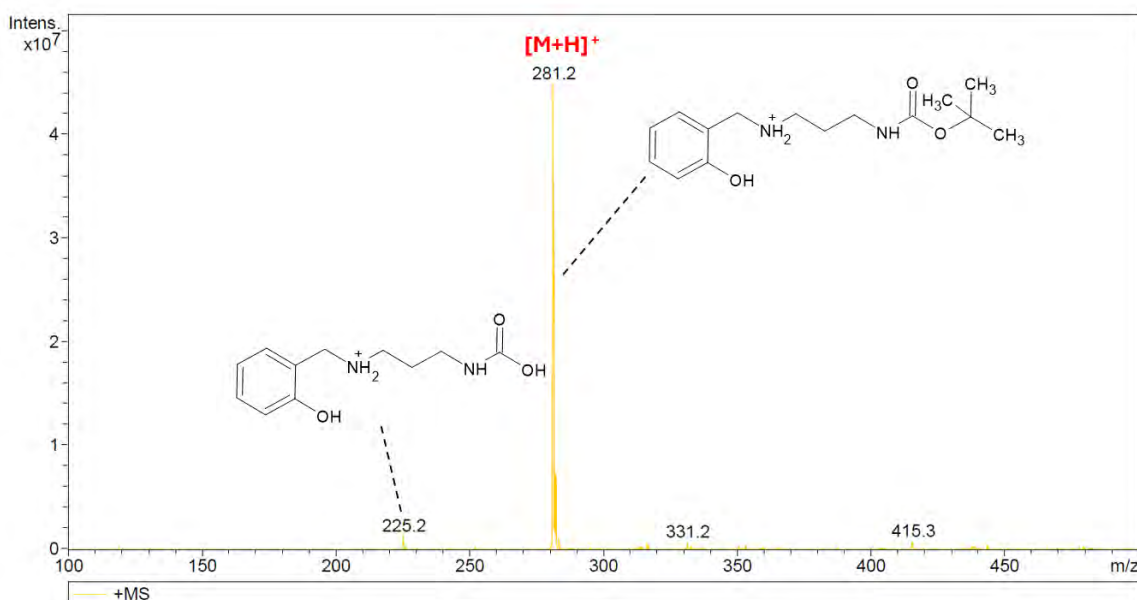


Figura 24: Espectro de masas del compuesto **B**

5.3. Síntesis y caracterización de **C**

5.3.1. Síntesis

El siguiente paso en el plan de síntesis consistió en la desprotección del grupo amino-Boc de modo que el grupo amino quede libre para reaccionar subsecuentemente con el derivado de resveratrol, y obtener el ligando asimétrico buscado. Así, la síntesis de **C** consistió en la eliminación del grupo Boc del carbamato en un medio acidificado con HCl. El mecanismo de dicha reacción se observa en la Figura 25 y comienza con la protonación de uno de los oxígenos del grupo carbamato, que luego produce la formación de un grupo de ácido carbámico y la eliminación del subproducto isobutileno. Luego, la reacción continúa con la protonación del nitrógeno y la eliminación de una molécula de CO₂ generando como producto al intermediario **C**.

Como se mencionó en el apartado anterior, la reducción del enlace imina del precursor **B** cumple un rol importante para esta nueva etapa, ya que en medio acuoso y ácido las bases de Schiff se tienden a descomponer en sus reactivos iniciales. Por ello, el no reducir la base de Schiff y someterla a una reacción de desprotección con el HCl generaría el rompimiento del enlace imina. Por lo tanto, se optó por reducir dicho enlace antes para así generar un enlace simple mucho más resistente a las condiciones ácidas de esta nueva fase.

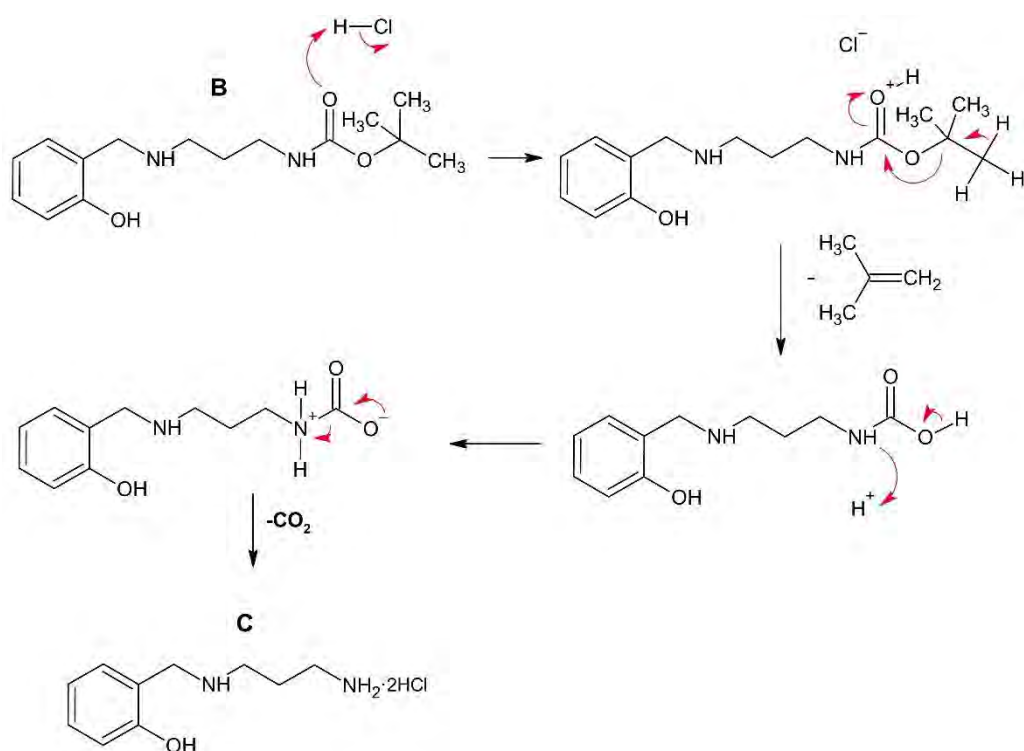


Figura 25: Mecanismo de reacción del compuesto C

Para la eliminación del grupo Boc se utilizan ácidos fuertes como el ácido trifluoroacético o el HCl; en este caso se optó por utilizar al HCl debido a la disponibilidad y bajo costo de dicho reactivo. Principalmente, el procedimiento experimental consistió en hacer reaccionar 1 equivalente de **B** con un exceso de 50 equivalentes de HCl, ya que dichas condiciones redujeron considerablemente el tiempo de reacción sin afectar la integridad estructural de la molécula. El desarrollo de la reacción fue monitoreado por TLC y al culminar, se rotaevaporó la mezcla a sequedad para eliminar los solventes, los subproductos gaseosos y el HCl excedente. De esta forma se obtuvo al intermediario **C** como un líquido viscoso color rojo con un rendimiento prácticamente cuantitativo. Cabe mencionar que, debido a la fuerte acidez del medio, los grupos aminas de **C** se encuentran protonados y con su respectivo contraión Cl⁻ convirtiendo a dicho producto en un compuesto iónico.

5.3.2. Caracterización

5.3.2.1. Espectroscopia infrarroja

El intermediario **C** fue analizado mediante espectroscopia FTIR y su espectro correspondiente se muestra en la Figura 26 junto a su estructura molecular. De igual manera, se aprecia la comparación de dicho espectro con el del predecesor **B** en la Figura 27.

El estiramiento del enlace O-H presente en el fenol se observa a 3395.60 cm^{-1} que, al igual que en **B**, mantiene un desplazamiento menor a su valor característico debido a las interacciones de puente de hidrógeno presentes.

Con respecto a los grupos amonio, el estiramiento de los enlaces del grupo NH_3^+ generalmente produce picos anchos en el rango de 2800 a 3200 cm^{-1} con sobretonos de 2000 a 2800 cm^{-1} . Asimismo, el estiramiento de NH_2^+ también genera señales bastante anchas en un rango reducido de 2700 a 3000 cm^{-1} con sobretonos de 2000 a 2800 cm^{-1} . Dichos rangos difieren con los estiramientos de una amina en su estado neutro y es exactamente lo que se observa en el espectro de **C**. En el rango de 2070.18 a 2952.33 cm^{-1} se aprecia un número de bandas bastante anchas e intensas generadas por el estiramiento de los grupos funcionales de amonio presentes en el intermediario, lo que permite su identificación.⁴²

Asimismo, las flexiones de los enlaces de los grupos NH_2^+ y NH_3^+ suelen generar picos agudos en un rango de 1560 a 1620 cm^{-1} y 1500 a 1625 cm^{-1} , respectivamente. Ello es concordante con el espectro de la Figura 26, ya que se observan tres picos con números de onda de 1584.21 , 1597.84 y 1615.13 cm^{-1} que podrían ser generados por la flexión de los enlaces $\text{N}^+\text{-H}$.

Los enlaces C-H de la cadena alifática y del anillo aromático se encuentran solapados con las bandas del N⁺-H, lo cual dificulta su visualización. Sin embargo, entre 1397.95 y 1492.16 cm⁻¹ se aprecian las bandas correspondientes a los estiramientos de los enlaces C-C del anillo aromático.

Tal como se puede observar en la Figura 27, la principal diferencia entre los espectros de **B** y **C** es la ausencia de la señal del carbonilo en este último, debido a que el grupo carbamato es eliminado como CO₂ durante la reacción de desprotección. Asimismo, las bandas en el rango de 2070.18 a 2952.33 cm⁻¹ de **C** son producto de los estiramientos de los enlaces N⁺-H y no están presentes en el compuesto **B**. Estas observaciones son concordantes con las estructuras de los compuestos **B** y **C** que, si bien son muy similares entre sí, también mantienen ciertas diferencias que son identificables mediante los espectros FTIR de cada muestra.

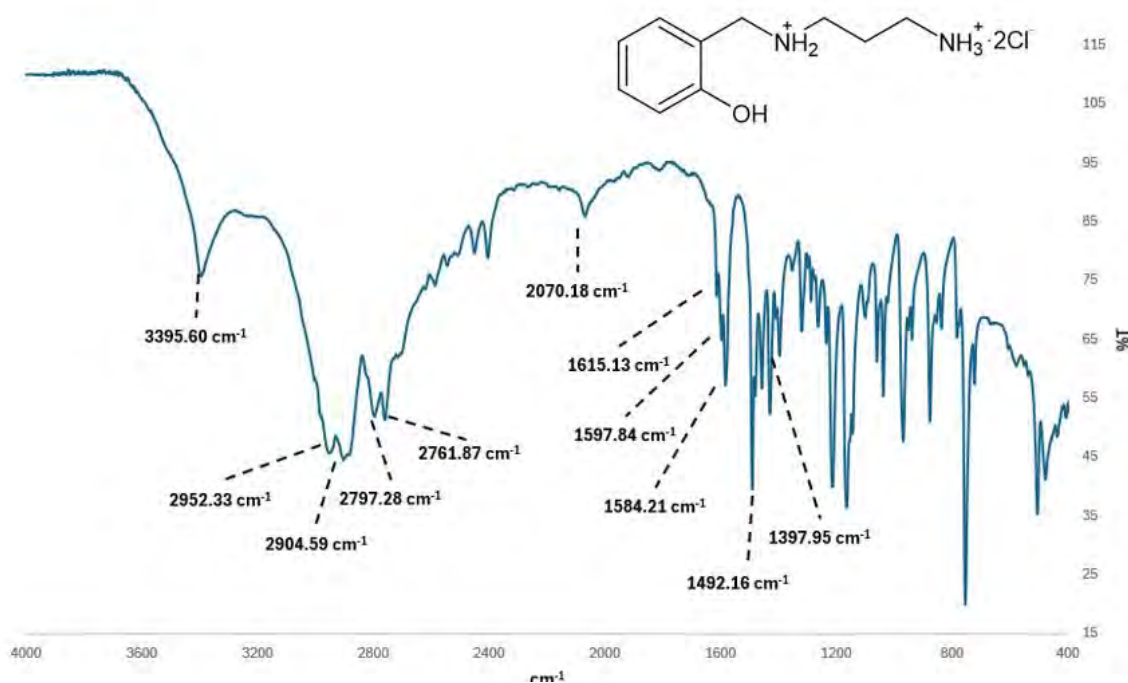


Figura 26: Espectro FTIR del compuesto C

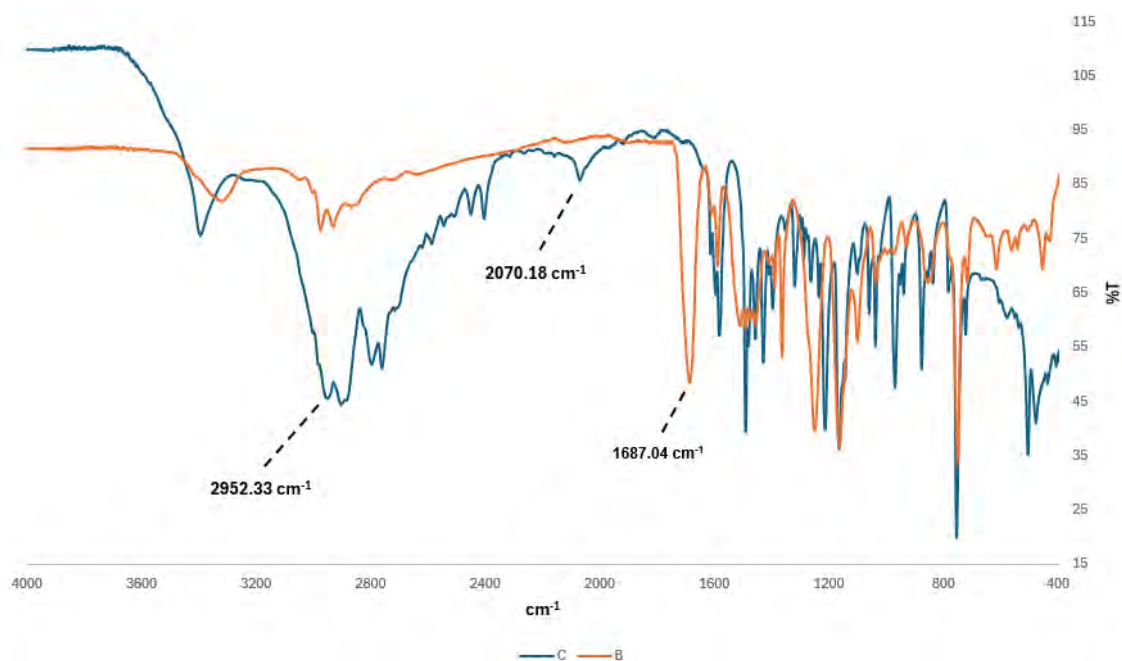


Figura 27: Espectros FTIR de los compuesto **B** (naranja) y **C** (azul)

5.3.2.2. Espectroscopia de resonancia magnética nuclear

El intermediario **C** también fue analizado por RMN y el espectro ^1H -RMN obtenido se muestra en la Figura 28 junto con la estructura molecular de **C**. A 8.223, 9.220 y 10.282 ppm se observan tres señales; las dos primeras pertenecen a los hidrógenos de H_1 y H_5 de los grupos amonio que, al estar protonados, integran por 3 y 2, respectivamente. Por otro lado, la tercera señal que integra por un protón corresponde al H_{11} del fenol.

Asimismo, en el rango aromático se observan los picos a 6.989 y 7.426 ppm que corresponden a los hidrógenos H_{10} y H_7 , respectivamente. Ello se debe a que H_{10} se encuentra protegido por el grupo $-\text{OH}$ ubicado en posición *orto*, mientras que H_7 , al estar en posición *meta*, está más desprotegido. Las señales de 6.824 y 7.217 ppm integran por uno y pertenecen a los hidrógenos aromáticos de H_8 y H_9 , respectivamente. Al igual que en el caso anterior, H_8 se encuentra protegido por el grupo hidroxilo ubicado en posición *para*, mientras que H_9 al estar en posición *meta* está ligeramente desprotegido.

Por otro lado, para la asignación de los protones alifáticos fue necesario realizar el experimento bidimensional COSY (^1H - ^1H) que se muestra en la Figura 29. En este espectro se observa que la señal a 4.030 ppm corresponde a los hidrógenos H_6 , ya que mantienen un acoplamiento con los protones H_5 de la amina secundaria. Las señales a 2.880 y 2.986 ppm corresponden a H_2 y H_4 , respectivamente, debido a las interacciones observadas con los hidrógenos H_1 y H_5 , mientras que la señal multiplete a 2.031 ppm pertenece a los dos protones H_3 que acoplan con H_2 y H_4 . Por último, la señal correspondiente a los metilos del grupo Boc ha desaparecido completamente, lo cual confirma que la reacción de desprotección se ha llevado a cabo satisfactoriamente.

De igual manera, en la Figura 30 se observa la estructura molecular del intermediario C con su respectivo espectro ^{13}C -RMN y en la Figura 31 se aprecia el espectro bidimensional (^1H - ^{13}C) HSQC de la misma muestra. La señal a 156.060 ppm corresponde al carbono C_{10} que, al estar unido a un grupo $-\text{OH}$, se encuentra bastante desprotegido. Asimismo, las señales a 130.348 y 131.622 ppm pertenecen a los carbonos C_8 y C_6 respectivamente. Esto se determina con el espectro HSQC, ya que se observa la relación que dichos carbonos mantienen con los hidrógenos H_9 y H_7 . Asimismo, las señales a 115.475 y 118.998 ppm corresponden a C_9 y C_7 , respectivamente, debido a la interacción que estos mantienen con los hidrógenos H_{10} y H_8 . Por otro lado, la señal de 118.025 ppm le pertenece al carbono cuaternario C_5 .

De igual manera, las señales a 23.517, 36.109, 43.677 y 44.911 ppm corresponden a los carbonos alifáticos C_2 , C_1 , C_3 y C_4 , respectivamente, debido a los acoplamientos observados con sus respectivos hidrógenos identificados previamente.

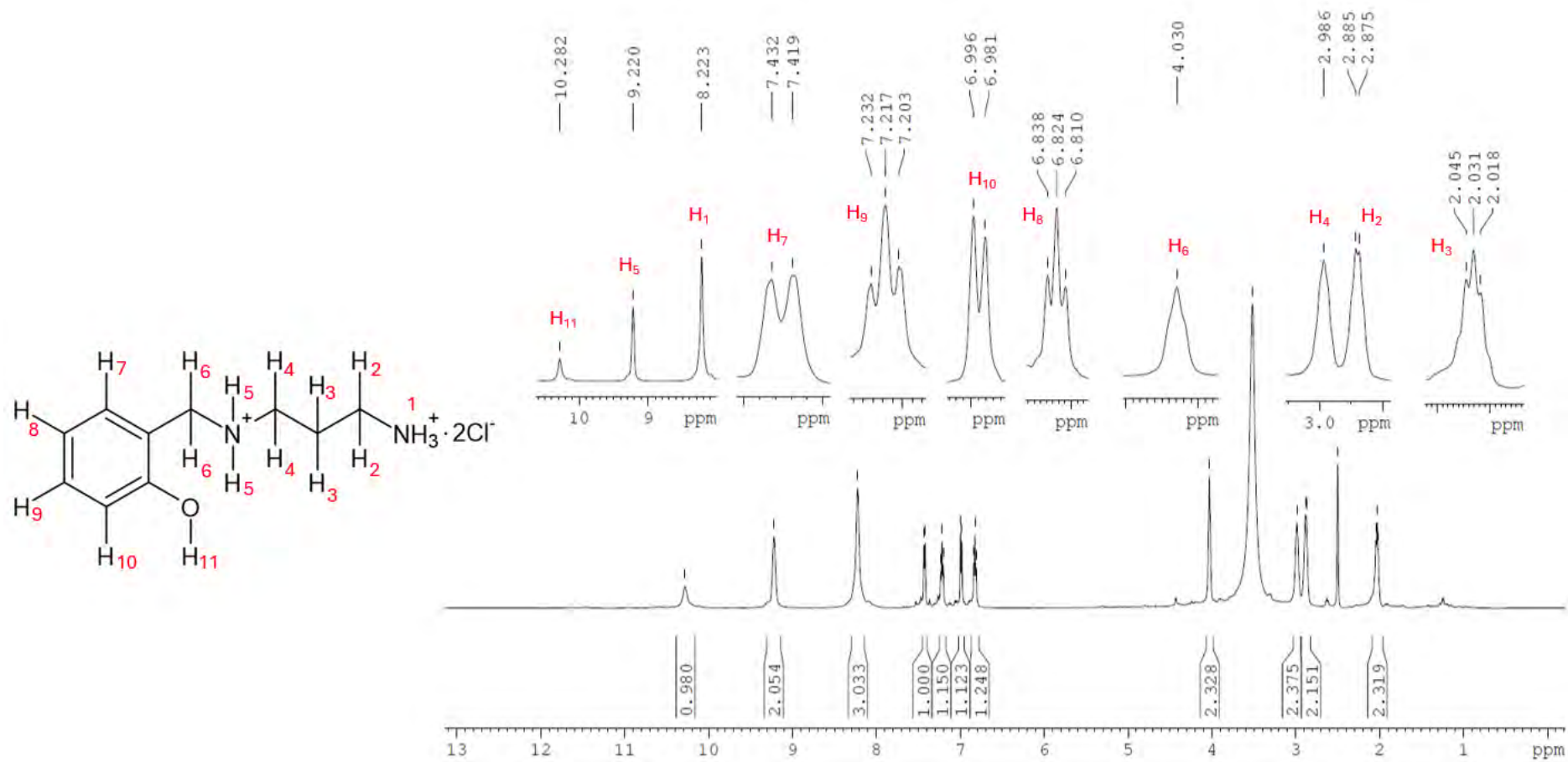


Figura 28: Espectro ¹H-RMN del intermediario C en DMSO-d₆.

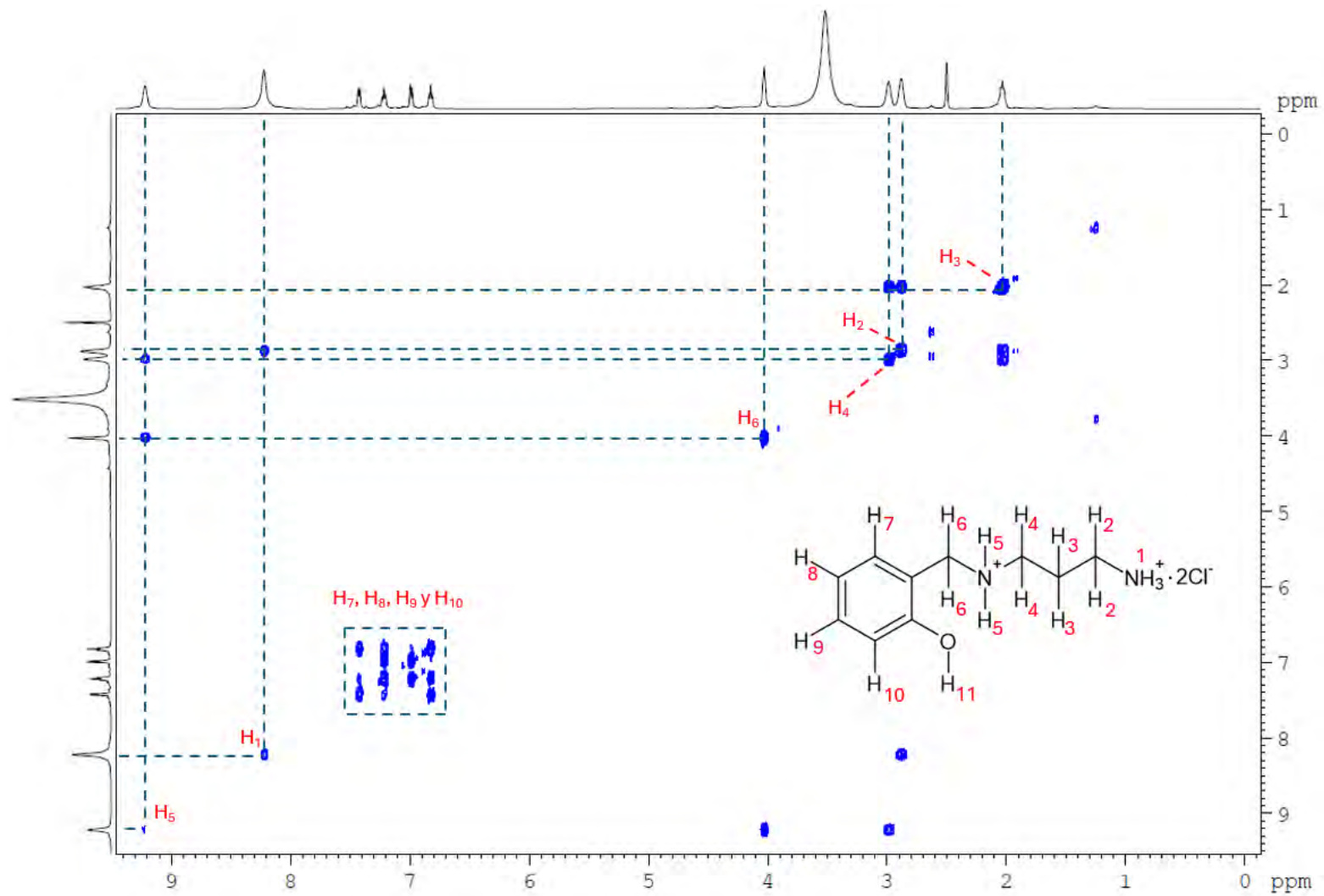


Figura 29: Espectro COSY del intermediario C en DMSO-d₆.

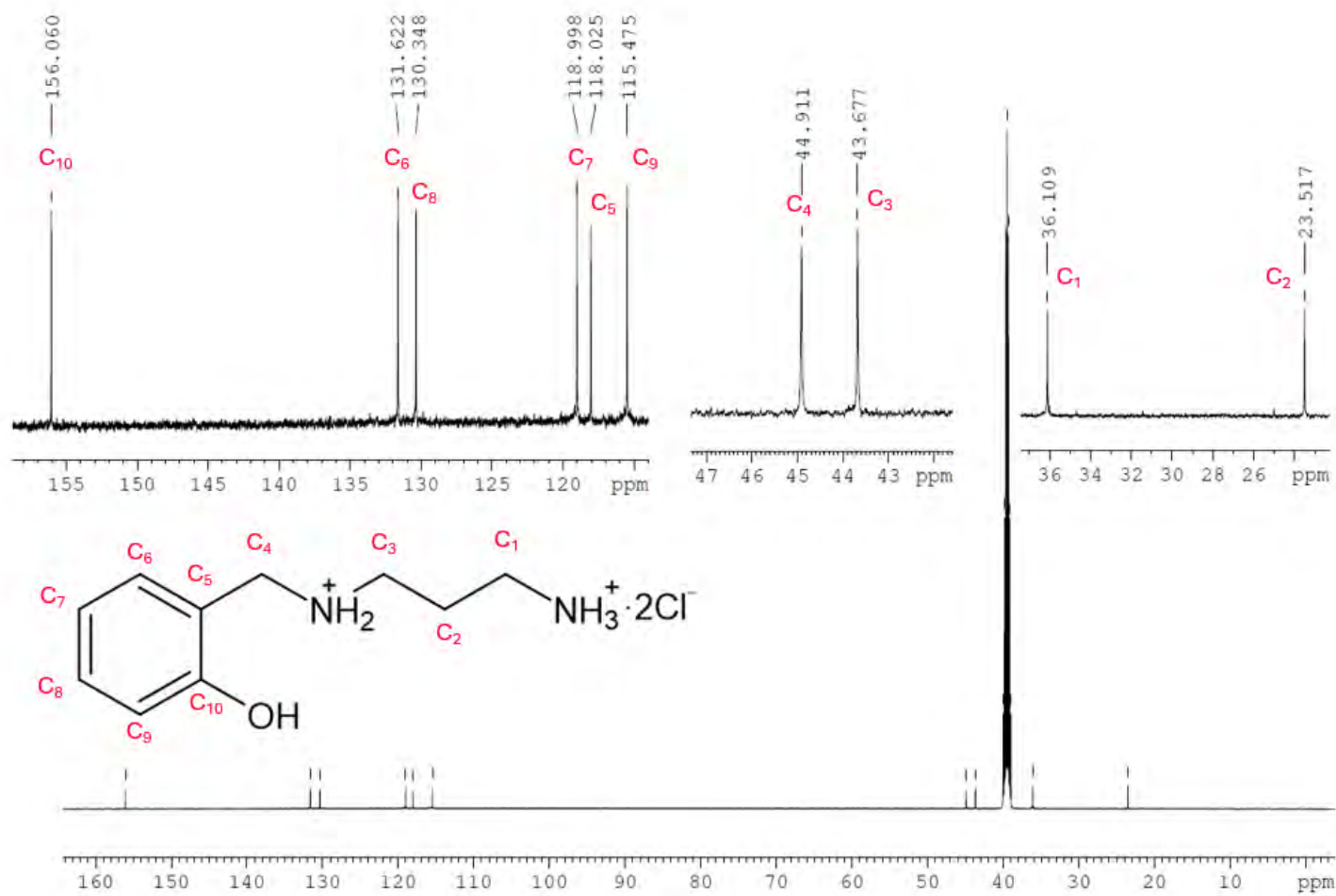


Figura 30: Espectro ^{13}C -RMN del intermediario C en DMSO- d_6 .

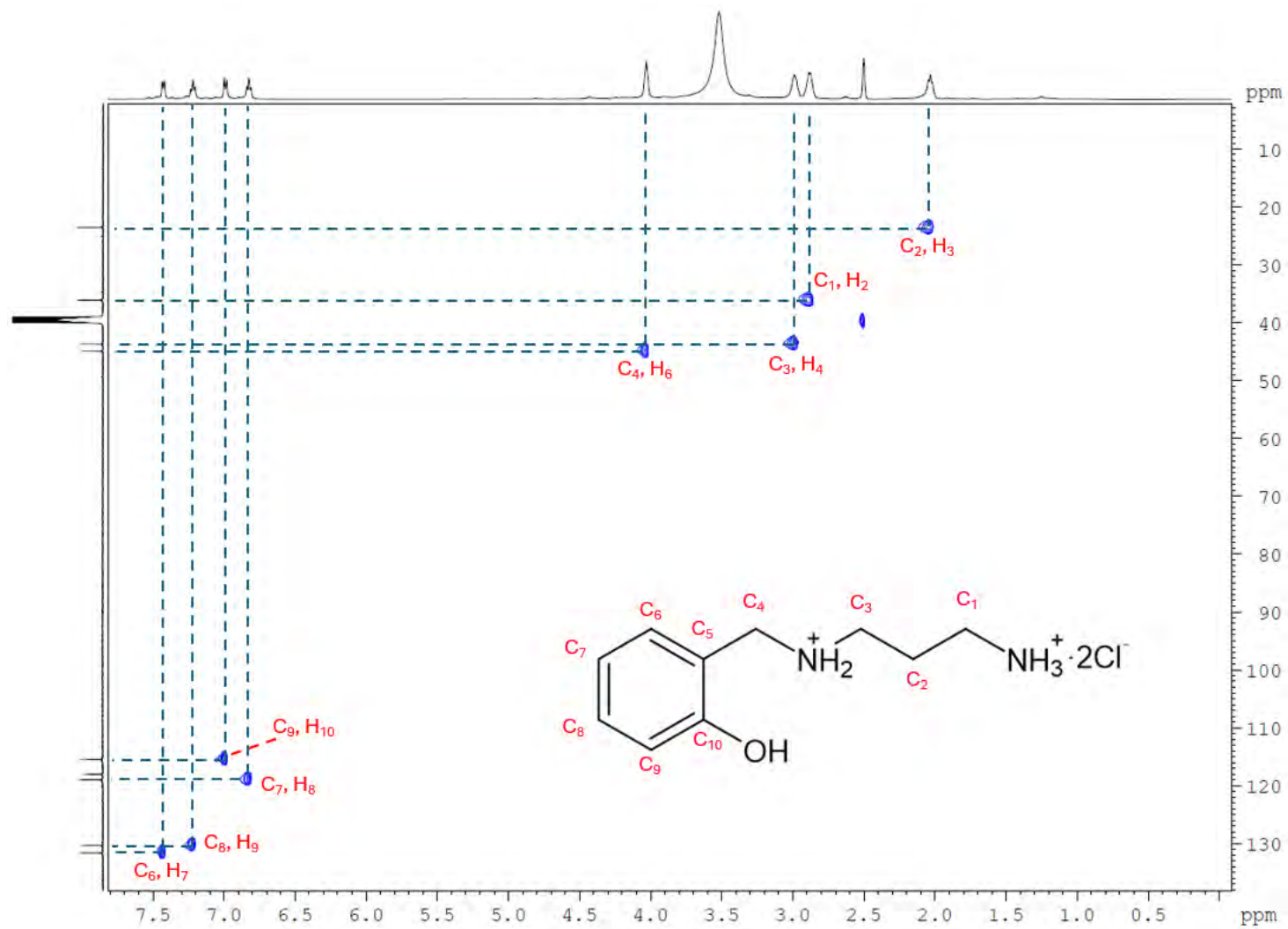


Figura 31: Espectro HSQC del intermediario C en DMSO-d₆.

5.3.2.3. Espectrometría de masas

El intermediario **C** fue analizado mediante espectrometría de masas de alta resolución y su espectro se presenta en la Figura 32. A diferencia de los intermediarios anteriores, **C** es un compuesto iónico constituido por un catión orgánico $[M+H]^+$ de fórmula $C_{10}H_{17}N_2O^+$ y dos aniones cloruro.

En el espectro de masas de alta resolución mostrado en la Figura 32 se aprecia una señal muy intensa a 181.1392 m/z, la cual es bastante similar a la masa esperada del catión $[M+H]^+$ ($C_{10}H_{17}N_2O^+$, 181.1335 m/z). La similitud entre la señal obtenida y la señal esperada en este espectro de alta resolución confirma la identidad del compuesto **C**.

Asimismo, se observan dos picos a 75.0939 y 107.0554 m/z que corresponden a los dos fragmentos formados a partir del rompimiento del enlace C-N que forma las dos estructuras mostradas en la Figura 32.

De igual manera, se aprecian otras señales minoritarias, lo cual indica que **C** es el producto principal. Por ello, de acuerdo con las pruebas de caracterización realizadas se afirma que el intermediario **C** posee la estructura planteada.

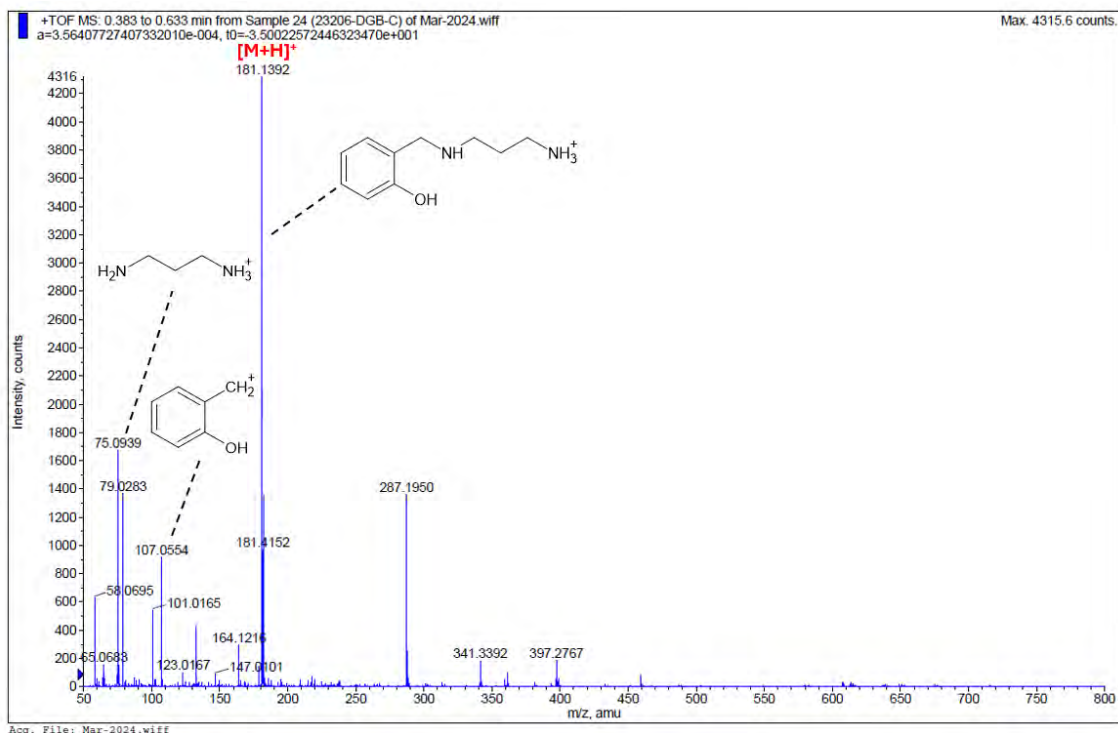


Figura 32: Espectro de masas de alta resolución del compuesto **C**

5.4. Síntesis y caracterización de **D**

5.4.1. Síntesis

La síntesis del compuesto **D** consistió en generar un derivado formilado del resveratrol por medio de una adaptación de la reacción de Vilsmeier-Haack, que debe ser realizada en atmósfera inerte y con un solvente seco. El resveratrol es un compuesto análogo al estilbeno que podría mantener cierta selectividad por los agregados A β . Por ello, lo que se busca en este paso es generar al producto **D**, un derivado del estilbeno, que en la siguiente etapa será introducido a la estructura del ligando **L** para promover que este último adquiera cierta selectividad por los agregados A β .

Asimismo, en la Figura 33 se observa el mecanismo propuesto para la formación de **D**, el cual comienza con el ataque de la dimetilformamida (DMF) al cloruro de oxalilo para formar un intermediario ion cloroiminio. Posteriormente, dicho intermediario es atacado por el anillo más activado del resveratrol en posición *orto* y *para* a los grupos hidroxilos,

lo cual genera un nuevo intermediario iónico que es atacado por una molécula de agua para formar el derivado formilado del resveratrol.^{28,39} En esta etapa, fue muy importante trabajar en atmósfera inerte y con solventes secos, debido a la gran reactividad del cloruro de oxalilo que reaccionaba con trazas de agua, las cuales promovían su descomposición y reducían en gran medida el rendimiento de la reacción.

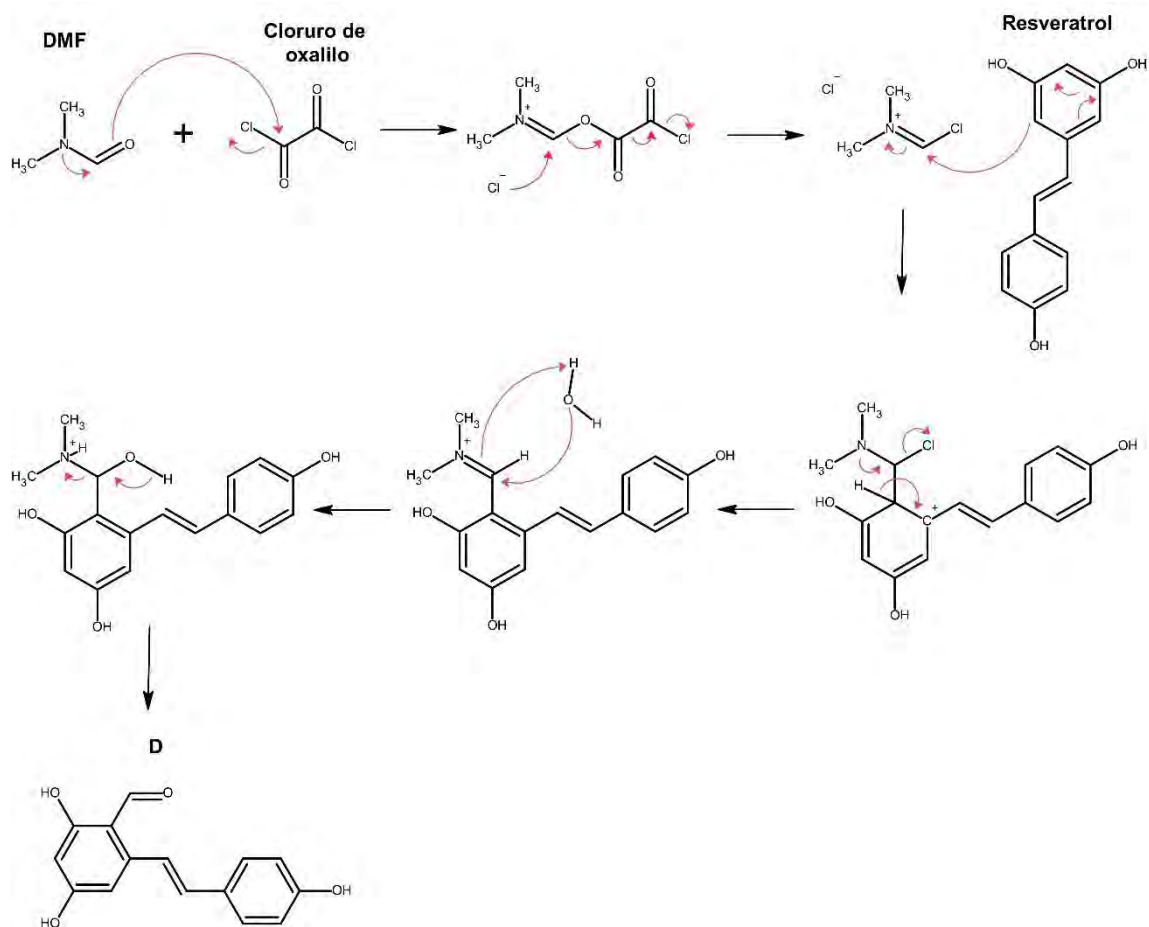


Figura 33: Mecanismo de reacción propuesto para la formación del compuesto **D**.

El procedimiento experimental para la síntesis de **D** comienza con el reactivo de resveratrol, un sólido color crema, que fue colocado en un matraz Schlenk y saturado con N_2 durante toda la reacción. De igual manera, el acetonitrilo utilizado fue previamente destilado y secado con tamices moleculares de 4 Å para eliminar todas las trazas de agua presentes en el solvente.²⁸

Posteriormente, se añadió el DMF a la mezcla lo cual facilitó la disolución del resveratrol dando lugar a una solución de color beige. Seguidamente se añadió el cloruro de oxalilo al matraz para generar el ión cloroiminio de acuerdo con el mecanismo presentado en la Figura 33. En la reacción de Vilsmeier-Haack, por lo general el agente clorante es el cloruro de fosforilo, pero debido a su poca disponibilidad, se optó por reemplazarlo con el cloruro de oxalilo, lo cual ha dado resultados comparables.^{28,39}

La adición del cloruro de oxalilo fue realizada en un baño de hielo, debido a que la gran reactividad del compuesto podría generar una doble formilación en el resveratrol, produciendo un producto alterno no deseado. Al bajar la temperatura se forzó a que el proceso de formación de los iones cloroiminios sea más lento, lo cual generó que las moléculas de resveratrol tengan menos iones con los cuales reaccionar, promoviendo la formación de un producto monoformilado. Dicha formilación ocurrió en el anillo más activado del resveratrol en posición *orto* y *para* a los grupos activadores hidroxilos. Al terminar la adición del cloruro de oxalilo la mezcla adoptó un color naranja-rojizo muy turbio y fue retirada del baño de hielo para continuar con la reacción a temperatura ambiente por 5 horas.^{28,39}

Después de las 5 horas de reacción, se agregó el agua para promover la hidrólisis del intermediario iminio. La mezcla adoptó un color amarillo y se dejó reaccionar por 12 horas para maximizar el rendimiento. Posteriormente, se extrajo el producto mediante una extracción líquido-líquido con acetato de etilo, en donde el compuesto **D** se mantuvo disuelto en la fase orgánica.

La fase orgánica fue rotaevaporada hasta obtener un crudo color mostaza, en el cual se identificaron dos compuestos; el intermediario **D** y un subproducto que posiblemente sea un compuesto diformilado. El producto **D** puede ser purificado por recristalización en un

sistema de metanol y agua o por una columna cromatográfica de sílica gel con una fase móvil de acetato de etilo:hexano (3:7).²⁸ Posteriormente, el intermediario **D** fue secado en una línea de vacío y analizado por distintas técnicas de caracterización.

5.4.2. Caracterización

5.4.2.1. Espectroscopia infrarroja

El compuesto **D** fue analizado por espectroscopia FTIR y su espectro correspondiente se muestra en la Figura 34 junto con su estructura molecular. A 3279.94 cm^{-1} se reconoce la señal correspondiente al estiramiento de los enlaces O-H fenólicos. En el rango de 2704.73 a 3019.24 cm^{-1} se aprecian una serie de bandas correspondientes al estiramiento de los enlaces C-H presentes en los anillos aromáticos, mientras que las bandas de 1395.49 a 1517.64 cm^{-1} se generan a partir del estiramiento de los enlaces C-C de dichos anillos. Asimismo, la señal a 1633.54 cm^{-1} es producto del estiramiento del enlace C=O presente en el compuesto **D** y confirma que la reacción de formilación realizada al reactivo de resveratrol ha sido exitosa. El pico de 1579.41 cm^{-1} pertenece a los estiramientos de los enlaces C=C de los anillos aromáticos. En conclusión, todas las señales presentes en el espectro FTIR son concordantes con la estructura propuesta del intermediario **D**.

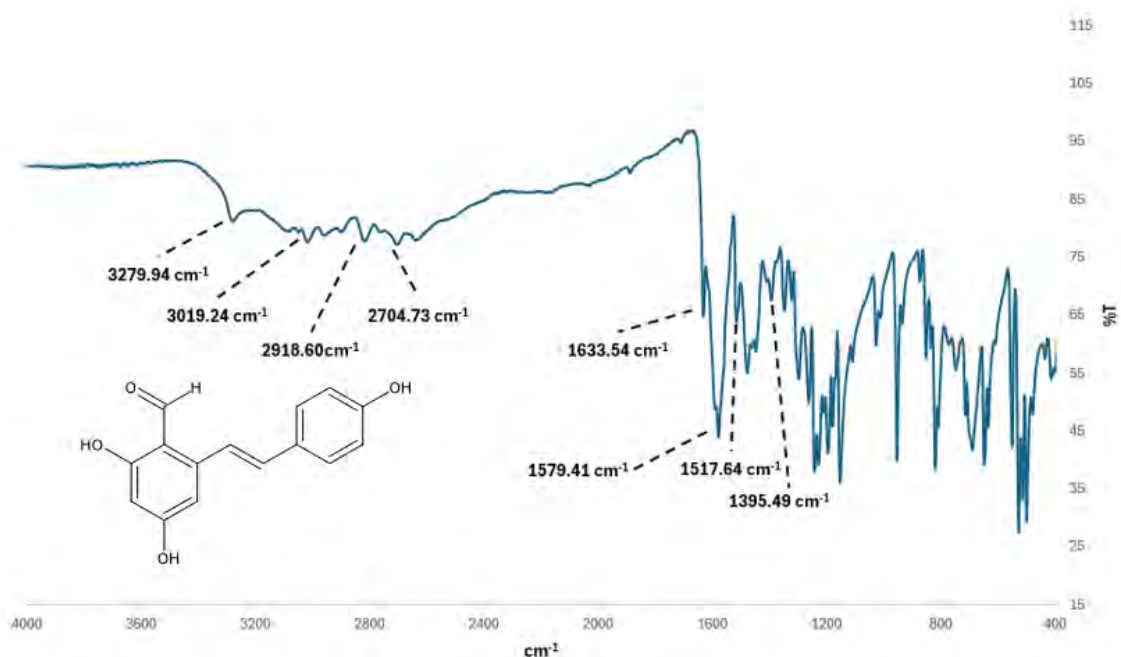


Figura 34: Espectro FTIR del compuesto **D**

5.4.2.2. Espectroscopia de resonancia magnética nuclear

Asimismo, también se recopiló el espectro ^1H -RMN de **D** que se muestra en la Figura 35 junto con su estructura molecular. Tal como sería de esperar, en este espectro se observa la señal a 10.265 ppm correspondiente al protón H_6 que está bastante desprotegido debido a que pertenece a un grupo aldehído. Asimismo, se observan tres señales muy anchas a 9.677, 10.736 y 12.109 ppm que corresponden a los hidrógenos fenólicos (nombrados como H_1 en el espectro).

En el rango aromático, las señales a 7.012 y 7.692 ppm integran por un protón y poseen una constante de acoplamiento de 16.00 Hz que es característico de los hidrógenos de un enlace doble en posición *trans*, por ello dichas señales pertenecerían a los hidrógenos H_4 y H_5 , respectivamente. Asimismo, se observan dos picos a 6.778 y 7.490 ppm que integran por dos hidrógenos cada uno: el primero pertenece a los protones H_2 que se encuentran protegidos por el grupo hidroxilo ubicado en posición *orto*, mientras que el segundo pico corresponde a los protones H_3 ubicados en posición *meta* al hidroxilo, lo cual genera un

efecto de desprotección y un mayor desplazamiento. Finalmente, las señales a 6.208 y 6.615 ppm pertenecen a los protones H₈ y H₁₀ que acoplan entre sí con una constante de acoplamiento de ~2 Hz.



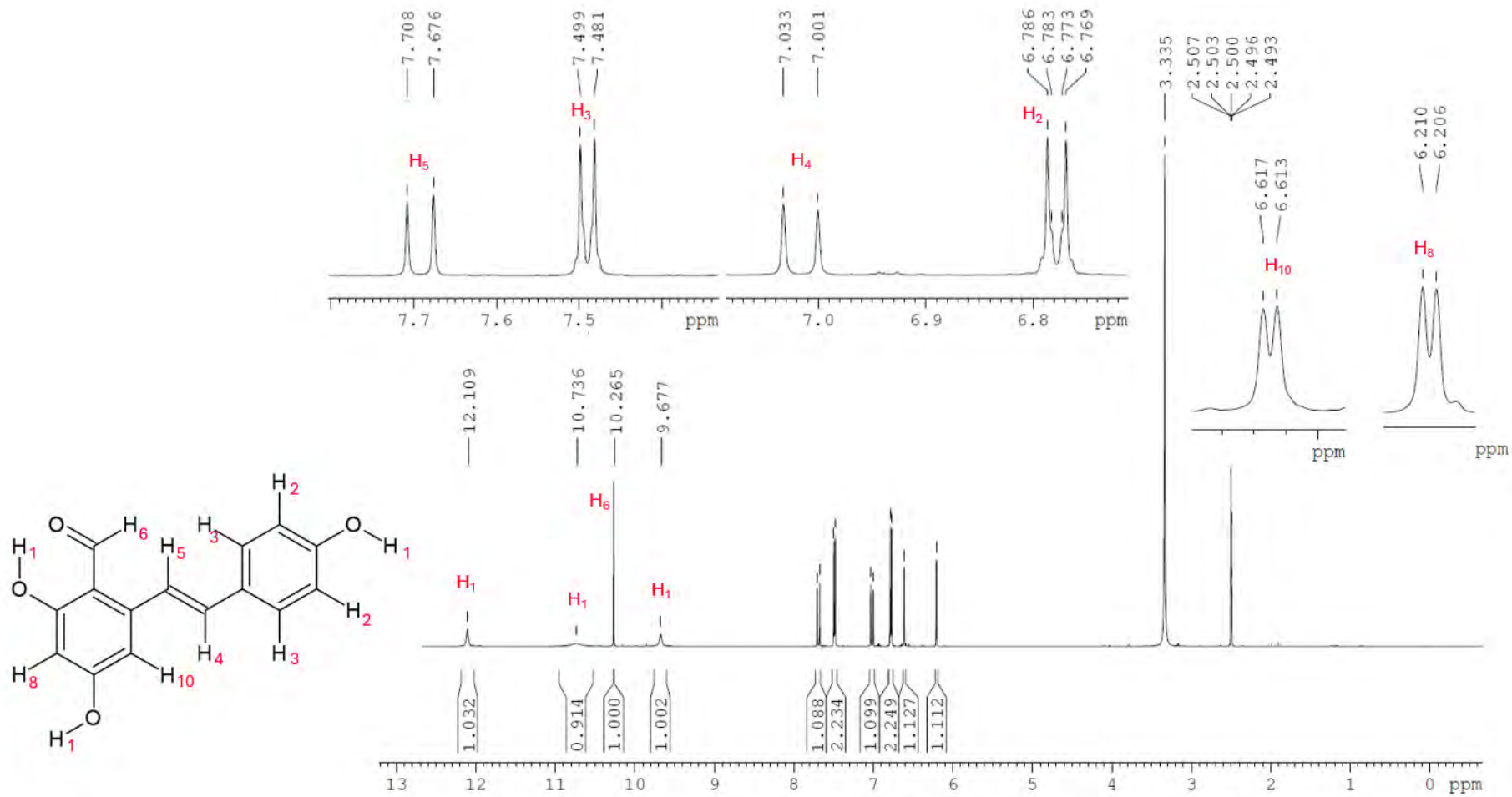


Figura 35: Espectro ¹H-RMN del compuesto **D** en DMSO-d₆.

5.4.2.3. Espectrometría de masas

La muestra **D** fue analizada por espectrometría de masas y su espectro correspondiente se muestra en la Figura 36. El intermediario **D** tiene una fórmula molecular de $C_{15}H_{12}O_4$ y se espera que su ion $[M-H]^-$ posea una masa de 255.0663 Da. En el espectro se observa la presencia de una única señal a 255.0 m/z que es concordante con la estructura molecular del intermediario **D** cuando está desprotonado. Por ello, y por todas las pruebas espectroscópicas realizadas se confirma que el compuesto **D** posee la estructura propuesta.

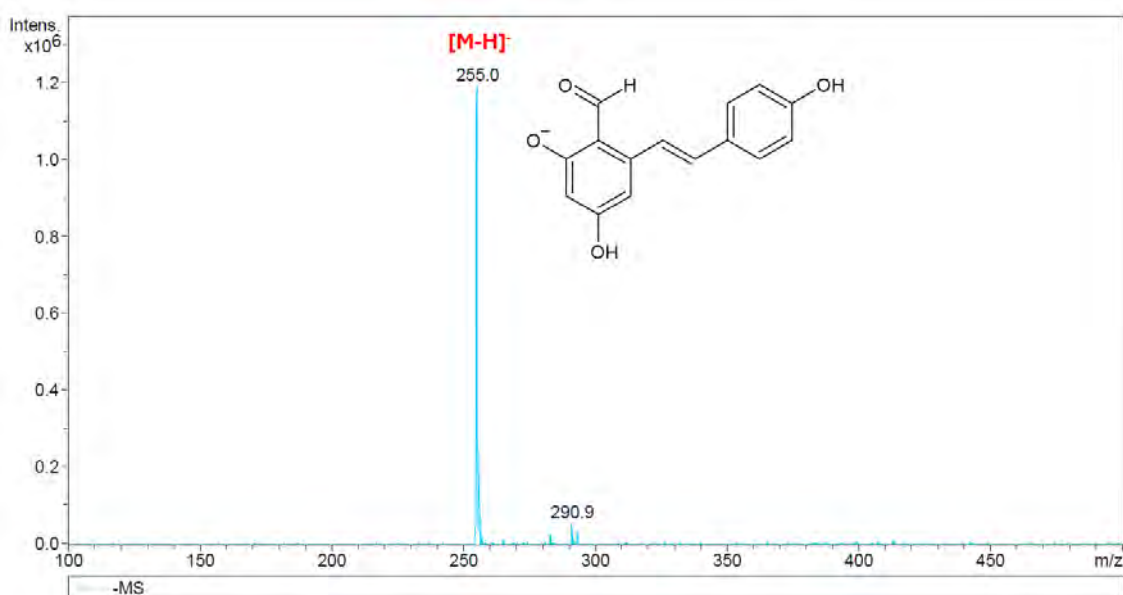


Figura 36: Espectro de masas del compuesto **D**

5.5. Síntesis y caracterización de **L**

5.5.1. Síntesis

Con respecto a la síntesis del compuesto **L**, el objetivo fue obtener un ligando tetradentado de cobre (II) con características estructurales de interés para el diagnóstico del Alzheimer. Para ello, lo que se buscó fue integrar al compuesto **D** en la estructura del pre-ligando **C** para así formar un ligando asimétrico con una estructura derivada del estilbena con posible afinidad por los agregados $A\beta$.

La síntesis del ligando **L** consistió en formar un enlace imina entre el pre-ligando **C** y el derivado del resveratrol **D** a través del mecanismo de adición nucleofílica presentado en la Figura 37a. El procedimiento experimental consistió en disolver 1 equivalente de **C** en metanol junto con 2 equivalentes de trietilamina (NEt_3), una base fuerte que desprotona los grupos amina de **C**, permitiendo que estos adquieran un comportamiento más nucleofílico. Después se agregó 1 equivalente de **D** y se dejó reaccionar bajo agitación constante. En los primeros ensayos se dejó la mezcla reaccionar a temperatura ambiente, pero mediante un seguimiento por TLC se determinó que los reactivos estaban reaccionando muy lentamente, por lo que se incrementó la temperatura a $70\text{ }^\circ\text{C}$ para acelerar la velocidad de reacción. Asimismo, a las 24 horas se determinó que los reactivos se habían consumido, prácticamente, en su totalidad.

Inicialmente la mezcla mantuvo un color amarillo ligeramente naranja, pero al transcurrir el tiempo esta empezó a adoptar un color naranja rojizo muy intenso. Asimismo, se observó la presencia de un sólido que comenzó a precipitar muy lentamente en el medio. Al culminar el tiempo de reacción se rotaevaporó la muestra a sequedad hasta obtener un crudo, en el cual a partir de un análisis por TLC se identificó un producto mayoritario y un subproducto que se sospecha podría ser un isómero de **L** formado a partir de la reacción entre la amina secundaria de **C** y el grupo carbonilo de **D**, mediante el mecanismo propuesto en la Figura 37b.

Dicha sospecha se debe principalmente a que la amina secundaria de **C** podría poseer una mayor nucleofilicidad que la amina primaria, lo que generaría que una porción de **D** reaccione con la amina secundaria. Sin embargo, la formación de dicho subproducto estaría limitada por un fuerte impedimento estérico generado por la presencia de ambos grupos aromáticos unidos a un mismo átomo de nitrógeno, generando que la formación del subproducto sea menos probable que la del ligando **L**.

Para la purificación de **L**, el producto crudo de la reacción fue disuelto en etanol y luego purificado en una columna cromatográfica de sílica gel con una fase móvil de acetato de etilo y metanol 9:1. Fue necesario utilizar una fase móvil muy polar, ya que el ligando **L**, al ser una molécula relativamente grande, no se desplaza fácilmente a través de la sílica. Por ello, fue necesario incrementar la polaridad de la fase móvil para que el producto de interés se desplace. Finalmente, lo que se obtuvo después de la purificación fue un sólido color amarillo.

El rendimiento final de la reacción es de 40%, lo cual es un valor relativamente bajo. Esto se atribuye a que durante la fase de purificación hubo pérdidas significativas de **L** en la columna, debido a la fuerte afinidad que dicha molécula mantiene con la fase estacionaria. Idealmente se recomendaría utilizar una columna preparativa de fase reversa para incrementar el rendimiento, pero por problemas de disponibilidad se optó por una columna cromatográfica de sílica gel.

Después de purificar y sintetizar el ligando **L** se realizaron otros ensayos, los cuales buscaban reducir al enlace imina con NaBH_4 para formar el ligando mostrado en la Figura 37c. En dichos ensayos se utilizaron 4 equivalentes de agente reductor por cada equivalente de **L**. Mientras la reacción transcurría se observaba como la mezcla adoptaba un color rojo muy intenso, el cual se intensificaba a medida que transcurría el tiempo. La mezcla reaccionó por aproximadamente 2 horas con un monitoreo constante por TLC y luego se le añadió agua para forzar la precipitación del producto y filtrarlo. Así, el producto final fue un sólido color beige que fue analizado por ^1H -RMN, pero en el espectro recopilado se observaron señales muy anchas y solapadas entre sí, las cuales no cumplían con la integración ni la multiplicidad de la estructura propuesta. Por ello, se realizaron otros ensayos en donde el tiempo de reacción se redujo a 30 minutos y 1 hora, pero los resultados de los espectros ^1H -RMN correspondientes seguían sin ser

concordantes con la estructura del ligando reducido. Por esta razón, se sospecha que la reducción del enlace imina en el ligando **L** genera una molécula inestable que tiende a descomponerse muy rápidamente. Por lo que, se optó por descartar la estructura reducida como posible ligando del cobre y se conservó al ligando **L** que fue secado en una línea de vacío por 24 horas y luego analizado mediante distintas técnicas de caracterización.



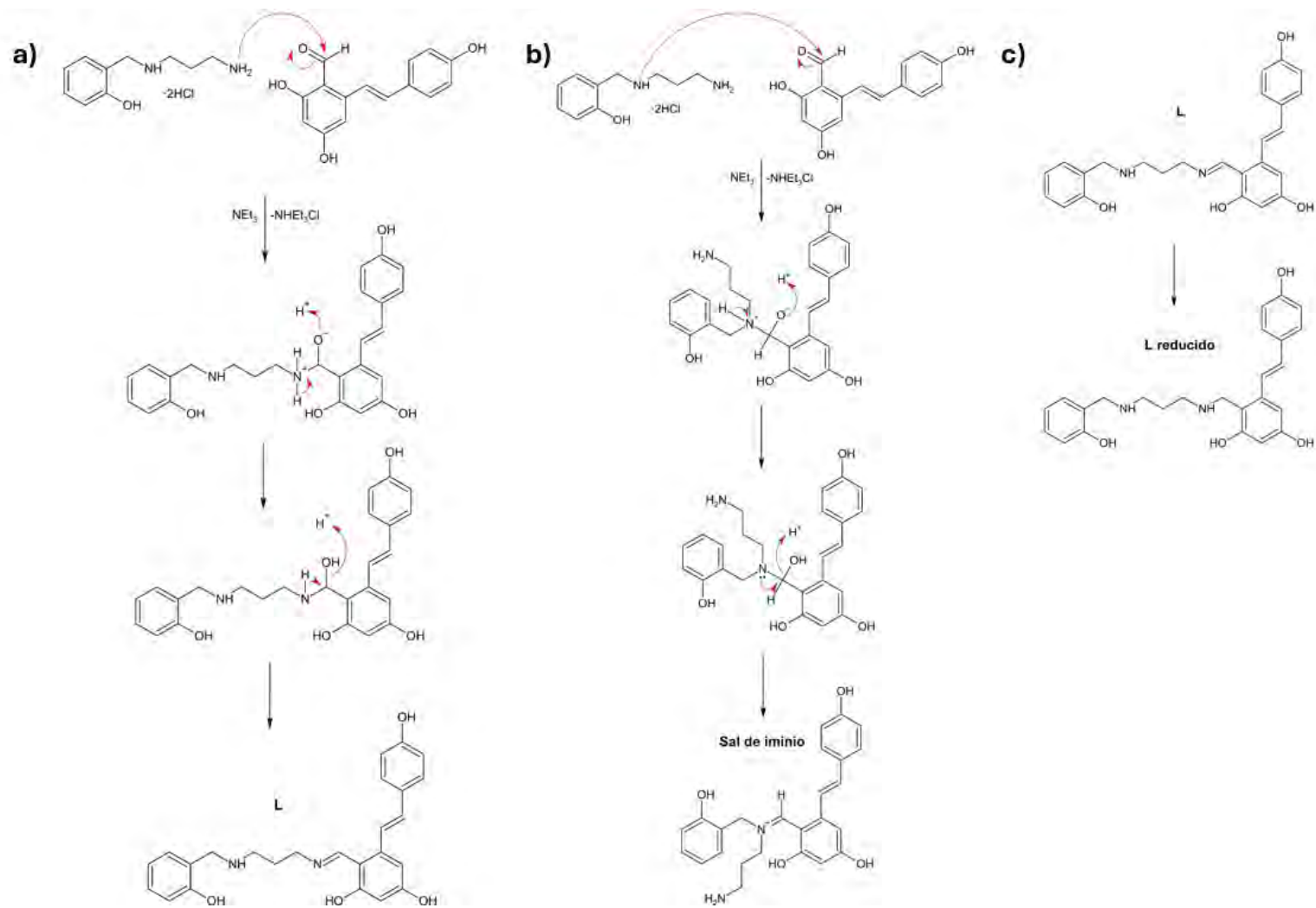


Figura 37: Mecanismo propuesto para la formación del ligando **L** y sus subproductos. En a) se muestra la reacción de formación de **L**, en b) se observa la reacción de formación de un posible subproducto iminio y en c) se presenta la estructura del ligando reducido.

5.5.2. Caracterización

5.5.2.1. Espectroscopia infrarroja

El ligando **L** fue analizado mediante espectroscopia FTIR y su espectro correspondiente se muestra en la Figura 38 acompañado de su estructura molecular. Se observa una señal a 2932.90 cm^{-1} que correspondería al estiramiento de los enlaces C-H presentes en la cadena alifática y en el anillo aromático. Dicha señal es considerablemente amplia lo cual podría atribuirse a un solapamiento con otra señal de desplazamiento similar como la del estiramiento del grupo N-H. Los picos producidos por los estiramientos de aminas suelen mantener valores de 3250 a 3400 cm^{-1} , pero las interacciones de puente de hidrógeno presentes en la molécula podrían disminuir el desplazamiento a un rango alrededor de los 2932.90 cm^{-1} , provocando dicho solapamiento.

De igual manera, la señal a 1627.59 cm^{-1} pertenece al estiramiento del enlace C=N del grupo imina, dicha señal mantiene un desplazamiento ligeramente menor al del grupo aldehído del compuesto **D**. Por otro lado, en el rango de 1456.08 a 1511.82 cm^{-1} se observan una serie de bandas correspondientes al estiramiento de los enlaces C-C de los anillos aromáticos. Asimismo, las señales de 1168.96 y 1239.95 cm^{-1} se generan a partir del estiramiento de los enlaces C-N de la molécula.

Por otra parte, en la Figura 39 se muestran los espectros FTIR de los compuestos **C**, **D** y **L** comparados entre sí. La señal carbonilo a 1579.41 cm^{-1} del compuesto **D** desaparece por completo después de la formación del ligando **L** y, en su lugar, aparece una señal a 1627.59 cm^{-1} correspondiente al grupo imina. Asimismo, al comparar los espectros FTIR de las muestras **C** y **L** se observa que las bandas de 2070.18 a 2952.33 cm^{-1} correspondientes al estiramiento de los enlaces N⁺-H de **C** desaparecen en **L** y son sustituidas por una banda mucho menos intensa con un desplazamiento de 2932.90 cm^{-1} principalmente generada por el estiramiento de un enlace N-H. Dichas observaciones,

indican que los precursores **C** y **D** han reaccionado entre sí para formar al ligando **L** que, de acuerdo con el análisis FTIR, parece tener la estructura propuesta.

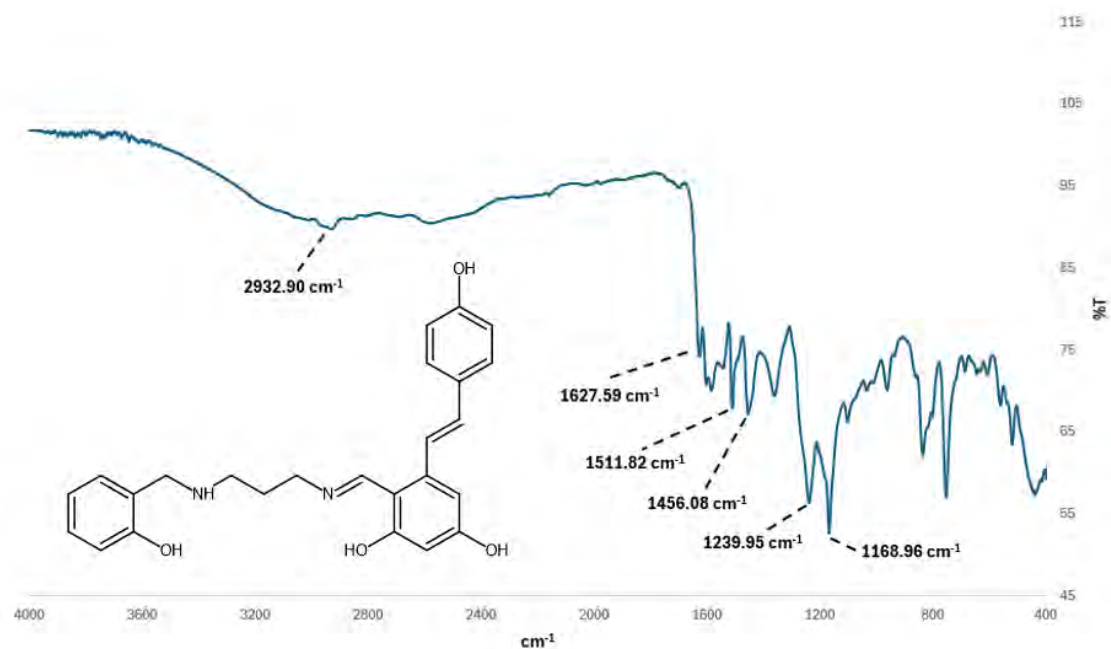


Figura 38: Espectro FTIR del ligando **L**



Figura 39: Espectros FTIR de los compuestos **L** (azul), **C** (naranja) y **D** (verde)

5.5.2.2. Espectroscopia de resonancia magnética nuclear

El ligando **L** también fue analizado mediante espectroscopia ^1H -RMN y su espectro correspondiente se muestra en la Figura 40 junto con su estructura molecular. En dicho espectro, se observa la señal singulete a 8.853 ppm, que corresponde al hidrógeno del grupo imina (H_{10}), ya que posee un desplazamiento característico de un hidrógeno unido a este grupo. De igual manera, la señal a 10.265 ppm correspondiente al hidrógeno del grupo aldehído del intermediario **D** ha desaparecido en su totalidad en este espectro, indicando que el precursor **D** ha reaccionado completamente.

Dada la asimetría de la molécula y su complejidad, en el rango aromático se observan varias señales, tal como era de esperar. Por ejemplo, se muestran dos señales que integran por dos hidrógenos cada una a 6.794 y 7.492 ppm; la primera corresponde a los protones H_2 que se encuentran protegidos por estar en posición *orto* al grupo hidroxilo, mientras que la segunda señal corresponde a los hidrógenos H_3 que están en posición *meta* al grupo -OH y, en consecuencia, están más desprotegidos.

Asimismo, los picos a 6.921 y 7.409 ppm mantienen una constante de acoplamiento de ~ 16 Hz, característica de un enlace doble en posición *trans*, por lo que corresponderían a H_4 y H_5 en el estilbeno.

Se observan dos señales a 7.060 ppm que solapan entre sí y que integran por un protón cada una, correspondiente a los protones del anillo aromático simple de la molécula. A 7.080 ppm está un doblete con un J de ~ 8 Hz correspondiente a H_{16} , mientras que a 7.049 ppm se ubica un triplete de dobletes que pertenece a H_{18} . Ambos protones se encuentran ubicados en posición *meta* al grupo hidroxilo, lo cual genera un efecto de desprotección. Lo mismo se observa para los otros dos protones de este anillo, H_{17} y H_{19} . A 6.699 ppm se encuentran otras dos señales solapadas que son un doblete y un triplete

de dobletes que corresponden a los protones H₁₉ y H₁₇, respectivamente, los cuales se ubican en posición *orto* y *para* a un grupo hidroxilo, generando un efecto de protección que reduce su desplazamiento en comparación a H₁₆ y H₁₈.

Por otro parte, las señales a 6.073 y 6.462 ppm son dobletes que integran por un protón y corresponderían a los protones H₈ y H₆ del anillo estilbeno que, al estar ubicados en posición *orto* y *para* a dos hidroxilos, mantienen un fuerte efecto de protección a comparación del resto de señales en la molécula. Por otro lado, la señal singulete de 3.823 ppm integra por dos y corresponde a los protones H₁₅, esta señal mantiene un desplazamiento similar a los H₆ del intermediario C, lo cual sugiere que si bien los protones poseen un ambiente químico similar, estos pertenecen a moléculas diferentes. Asimismo, las señales de 1.813, 2.608 y 3.623 ppm son multipletes que integran por dos protones y que corresponden a los hidrógenos alifáticos H₁₂, H₁₁ y H₁₃, respectivamente.

Por otro lado, los picos de los hidrógenos H₁, H₇, H₉, H₁₄ y H₂₀ correspondientes a los fenoles y a la amina no se observan en el espectro ¹H-RMN. Se sospecha que dichos hidrógenos podrían estar intercambiándose entre sí o con algunas trazas de agua presentes en el solvente de DMSO-d₆.

Para la asignación de todas estas señales también se recurrió a experimentos bidimensionales de RMN. Así, en la Figura 41 se observa el espectro ¹H-¹H COSY de L, en el que se aprecia el acoplamiento entre las señales de protón. En el rango aromático de 6.0 a 8.0 ppm (Figura 42) se observan las interacciones de todos los hidrógenos correspondientes a los tres anillos aromáticos y al enlace doble *trans*. Los picos de H₂ y H₃ interaccionan entre sí debido a que los hidrógenos correspondientes se mantienen en posición *orto* en la estructura del grupo estilbeno. Asimismo, los hidrógenos H₆ y H₈ también pertenecen a la estructura del estilbeno y se ubican en posición *meta*, lo que

genera que sus señales correspondientes acoplen entre sí tal y como se aprecia en el espectro. Por otro lado, los protones H₁₆, H₁₇, H₁₈ y H₁₉ se encuentran ubicados en el otro anillo fenólico y, como era de esperarse, sus señales correlacionan entre sí, debido a que dichos protones pertenecen todos al mismo sistema aromático. De igual manera, también se aprecia el acoplamiento que los protones del enlace doble H₄ y H₅ mantienen entre sí.

Por otra parte, en el rango de 1.5 a 4.0 ppm se aprecian las interacciones de las señales de los protones alifáticos (Figura 43). Se observan dos acoplamientos de la señal H₁₂ con H₁₁ y H₁₃, mientras que para la señal H₁₅ no se observa ninguna correlación. Ambas observaciones son concordantes, debido a que los protones H₁₁ y H₁₃ son hidrógenos vecinos de H₁₂, lo cual es coherente con las interacciones mostradas. Por otro lado, los H₁₅ no se encuentran al lado de ningún protón, generando que no mantenga ningún tipo de interacción.

La muestra también fue analizada mediante espectroscopia RMN de carbono y en la Figura 44 se observa el espectro ¹³C-RMN de **L** acompañado de la estructura enumerada de la molécula. Se aprecian 23 señales correspondientes al ligando, de las cuales 19 corresponden a señales de carbonos sp² ubicados en los anillos aromáticos y enlaces dobles de la molécula. Asimismo, también hay 4 señales del tipo sp³ que corresponden a los grupos -CH₂- de la cadena alifática.

Para la identificación de las señales de carbono se realizó otro análisis bidimensional. En la Figura 45 se aprecia el espectro (¹H-¹³C) HSQC completo de **L** en donde se identifica la correlación de las señales de protón con las de carbono y en la Figura 46 se observa una amplificación en el rango aromático. La señal a 161.944 ppm correspondería al carbono C₁₃ debido a que se observa una correlación con el hidrógeno del enlace imina.

Asimismo, los picos a 120.907 y 132.076 ppm pertenecen a los carbonos C₆ y C₅, ya que interactúan con los protones H₅ y H₄ del doble enlace *trans* del estilbeno.

Las señales a 115.484 y 128.428 ppm corresponden, cada una, a dos carbonos: los centros C₂ y C₃, respectivamente, debido a que correlacionan con los protones H₂ y H₃. De igual manera, la presencia del grupo hidroxilo genera un efecto de protección en C₂ y uno de desprotección en C₃ de acuerdo con el posicionamiento *orto* y *meta* de los carbonos respecto al -OH.

Asimismo, los picos a 115.341, 118.436, 127.918 y 128.698 ppm pertenecen a los carbonos C₂₂, C₂₀, C₂₁ y C₁₉, respectivamente, del anillo aromático simple, debido a las interacciones correspondientes con los protones H₁₉, H₁₇, H₁₈ y H₁₆. Se aprecia que estos cuatro carbonos pertenecen a un anillo fenólico en donde la presencia del grupo hidroxilo genera un efecto protector en los carbonos C₂₀ y C₂₂ y uno desprotector en C₁₉ y C₂₁ debido a la posición *orto*, *meta* o *para* que dichos átomos mantienen con el -OH.

Las señales a 102.423 y 103.622 ppm corresponden a los átomos C₁₀ y C₈, ya que se observa una interacción con los protones H₈ y H₆. Por otro lado, los picos a 30.191, 45.567, 50.187 y 53.509 ppm, debido a su desplazamiento químico y a las interacciones observadas en el espectro HSQC, pertenecen a los carbonos alifáticos C₁₅, C₁₄, C₁₇ y C₁₆, respectivamente.

Por otro lado, las ocho señales restantes corresponden a los carbonos cuaternarios de la molécula. Los picos a 157.327, 157.725, 162.327 y 168.113 ppm corresponden a los carbonos C₂₃, C₁, C₉ y C₁₁, respectivamente, que se encuentran relativamente desprotegidos, ya que están directamente unidos a un grupo hidroxilo. Por otro lado, las señales a 108.065, 123.721, 127.941 y 141.246 ppm pertenecerían a los átomos de

carbono C_{18} , C_4 , C_7 y C_{12} que, al no enlazar con un oxígeno, se encuentran más protegidos y aparecen a menor desplazamiento químico que los anteriores.



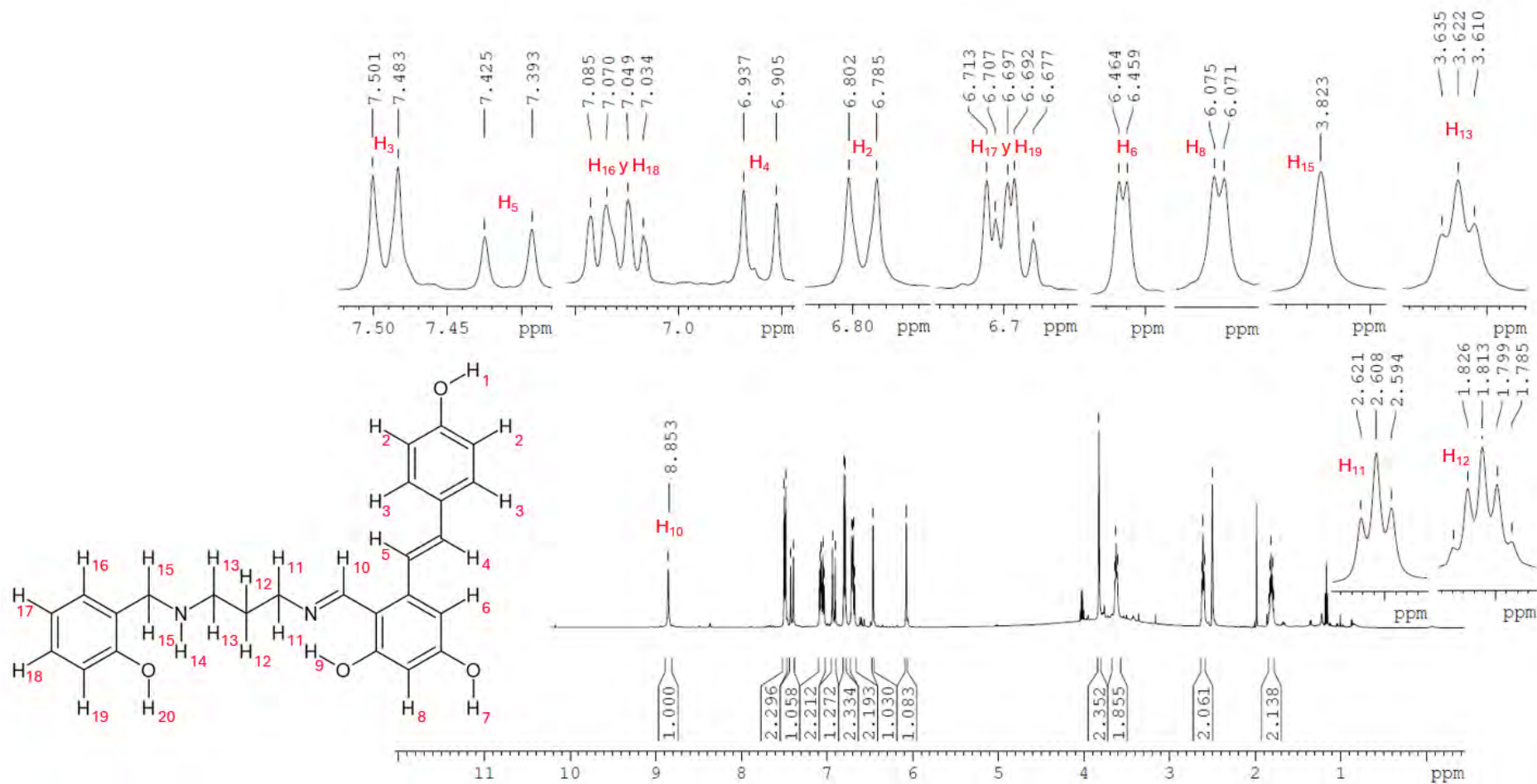


Figura 40: Espectro ¹H-RMN del ligando L en DMSO-d₆.

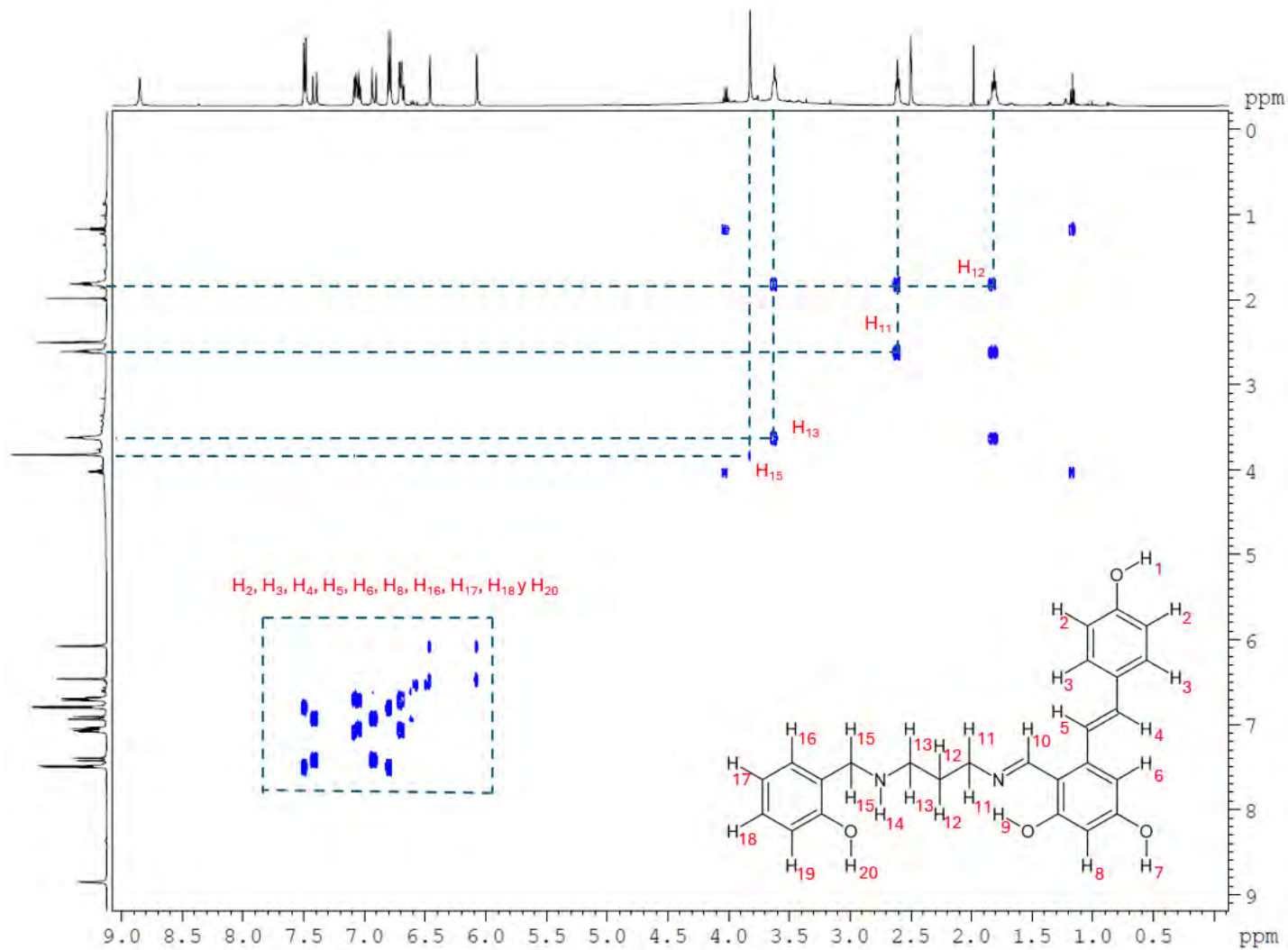


Figura 41: Espectro COSY del ligando L en DMSO-d₆.

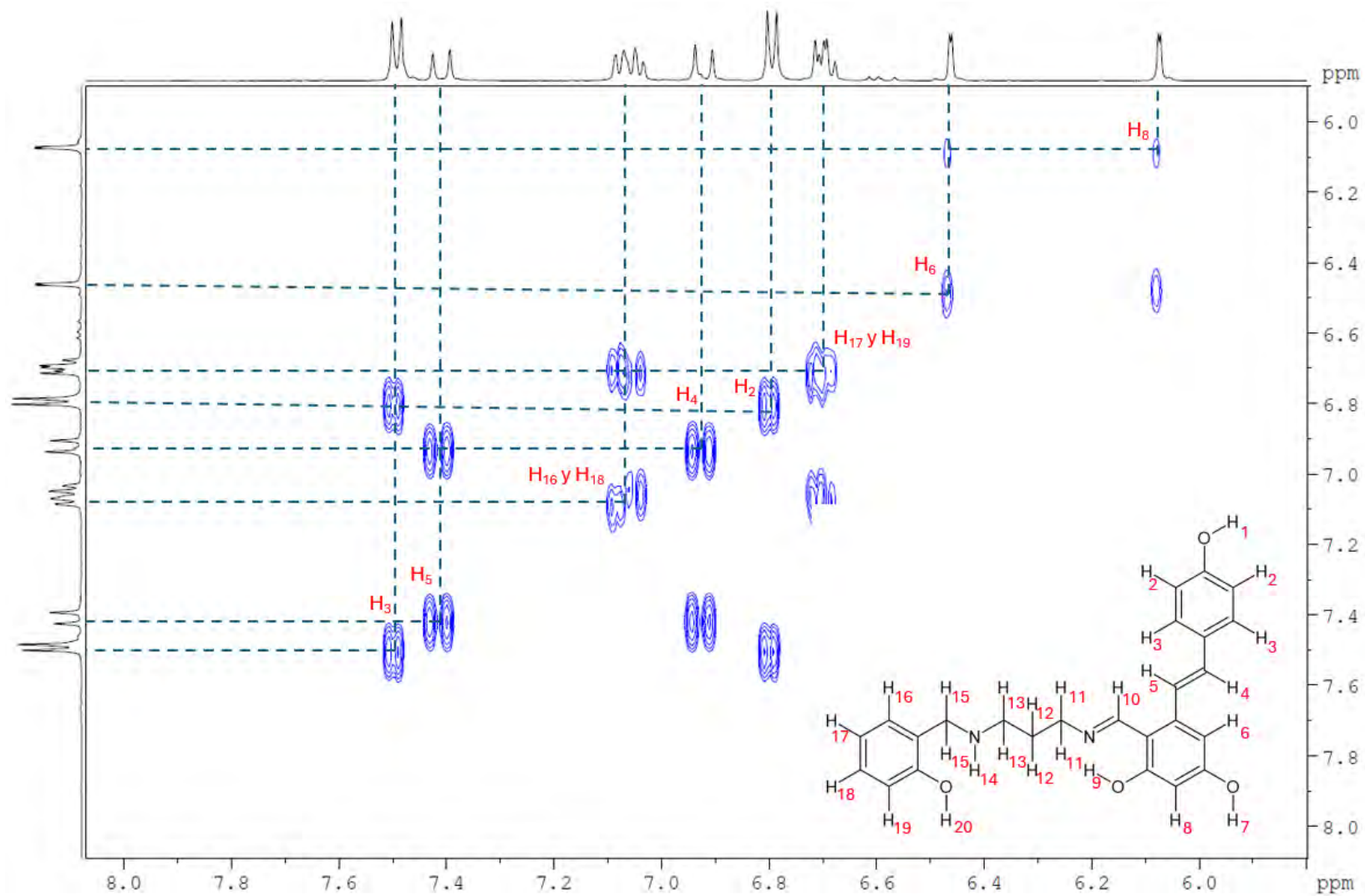


Figura 42: Espectro COSY del ligando **L** amplificado de 6.0 a 8.0 ppm en DMSO-d₆.

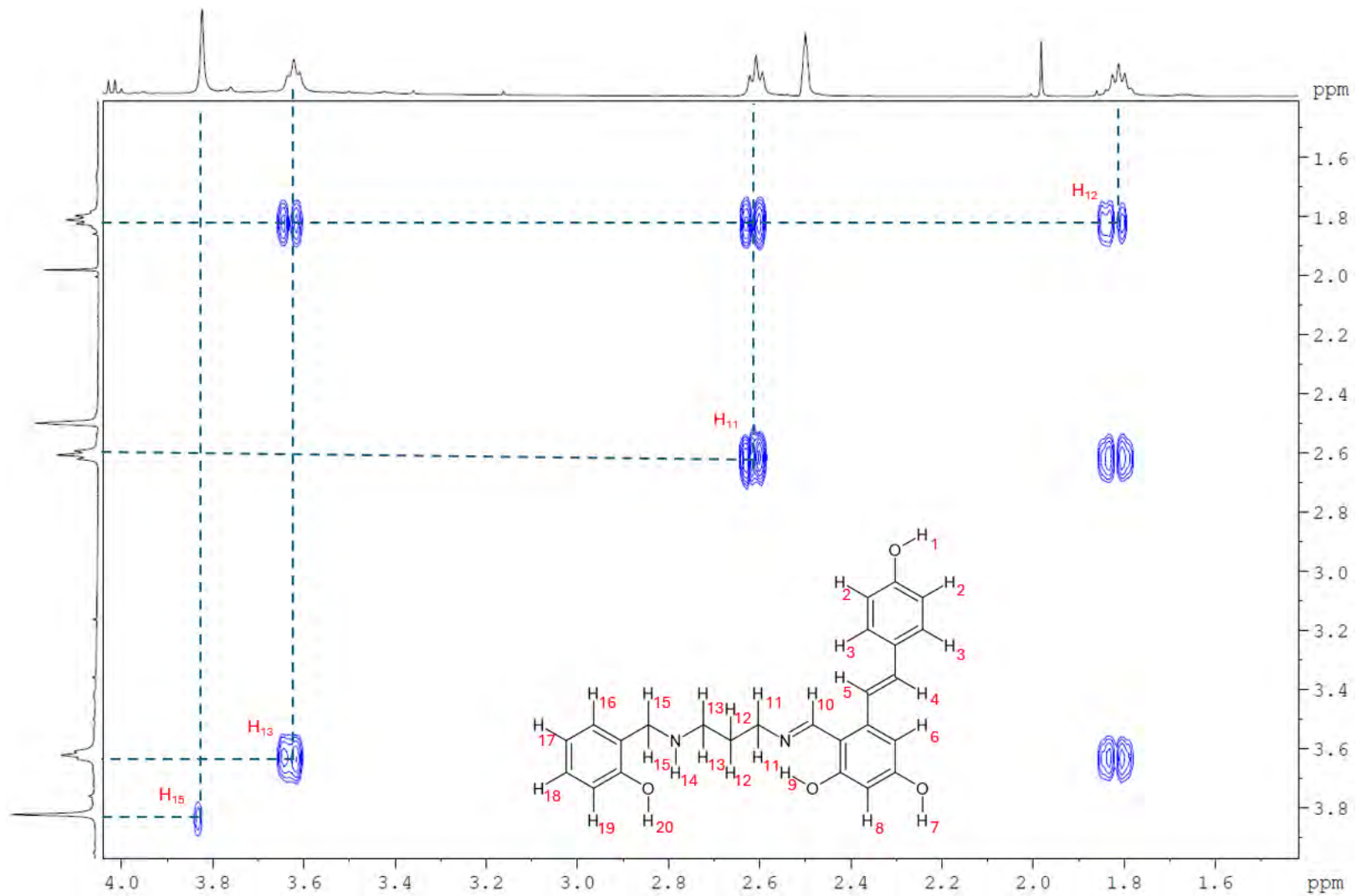


Figura 43: Espectro COSY del ligando L amplificado de 1.5 a 4.0 ppm en DMSO-d₆.

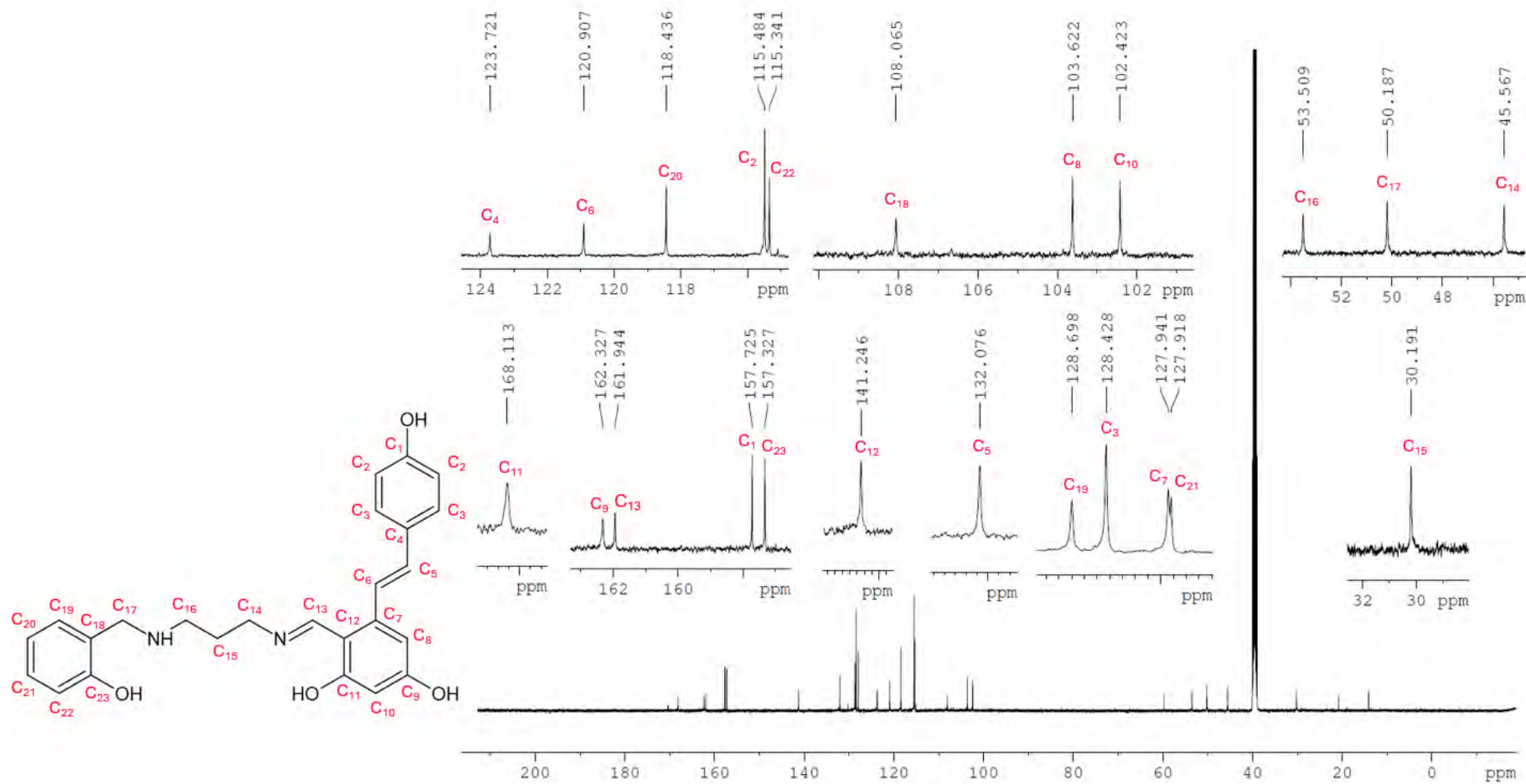


Figura 44: Espectro ^{13}C -RMN del ligando L en DMSO-d_6 .

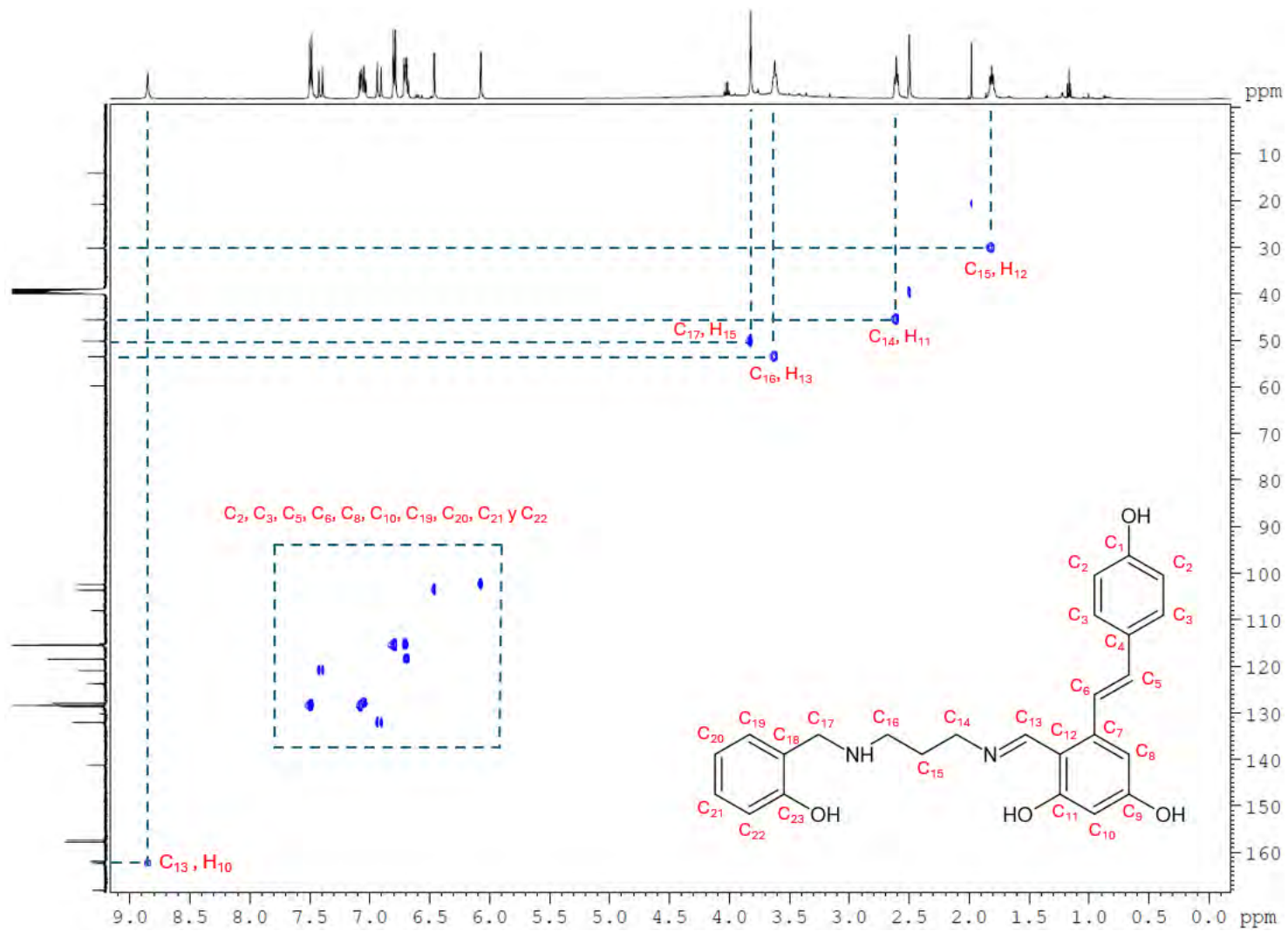


Figura 45: Espectro HSQC del ligando **L** en DMSO- d_6 .

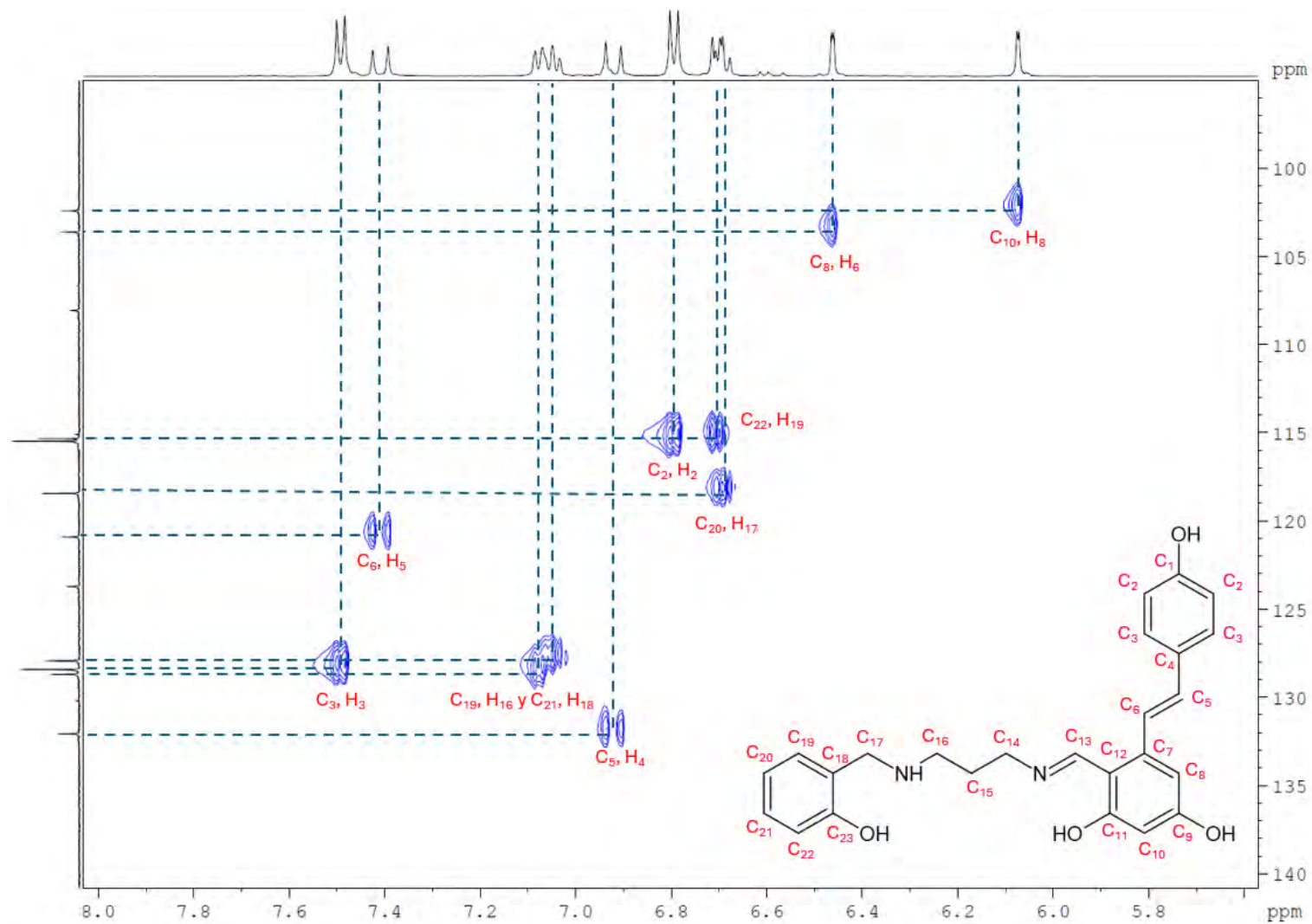


Figura 46: Espectro HSQC del ligando L amplificado de 100 a 140 ppm en DMSO-d₆.

5.5.2.3. Espectrometría de masas

El ligando **L** fue analizado por espectrometría de masas y su espectro correspondiente se muestra en la Figura 47. Dicho ligando de fórmula molecular $C_{25}H_{26}N_2O_4$ posee un ion $[M+H]^+$ que tiene una masa estimada de 419.1965 Da.

En el espectro se observa una señal muy intensa a 419.1902 m/z que es bastante similar a la señal esperada de $[M+H]^+$. La similitud entre la señal obtenida y la señal esperada en este espectro de alta resolución confirma la identidad del compuesto **L**. De igual manera, se aprecian dos señales relativamente intensas a 107.0486 y 313.1534 m/z, las cuales corresponden a los dos fragmentos moleculares mostrados en la Figura 47 que se producen a partir de la fragmentación del ligando **L** en el enlace C-N. Estas tres señales mostradas en el espectro son concordantes con la estructura propuesta del ligando **L**. Asimismo, las pruebas espectroscópicas realizadas previamente también son concordantes con la estructura propuesta. Por ello, se concluye que la síntesis del ligando **L** ha sido exitosa y el producto puede ser empleado para la formación del complejo de cobre (II).

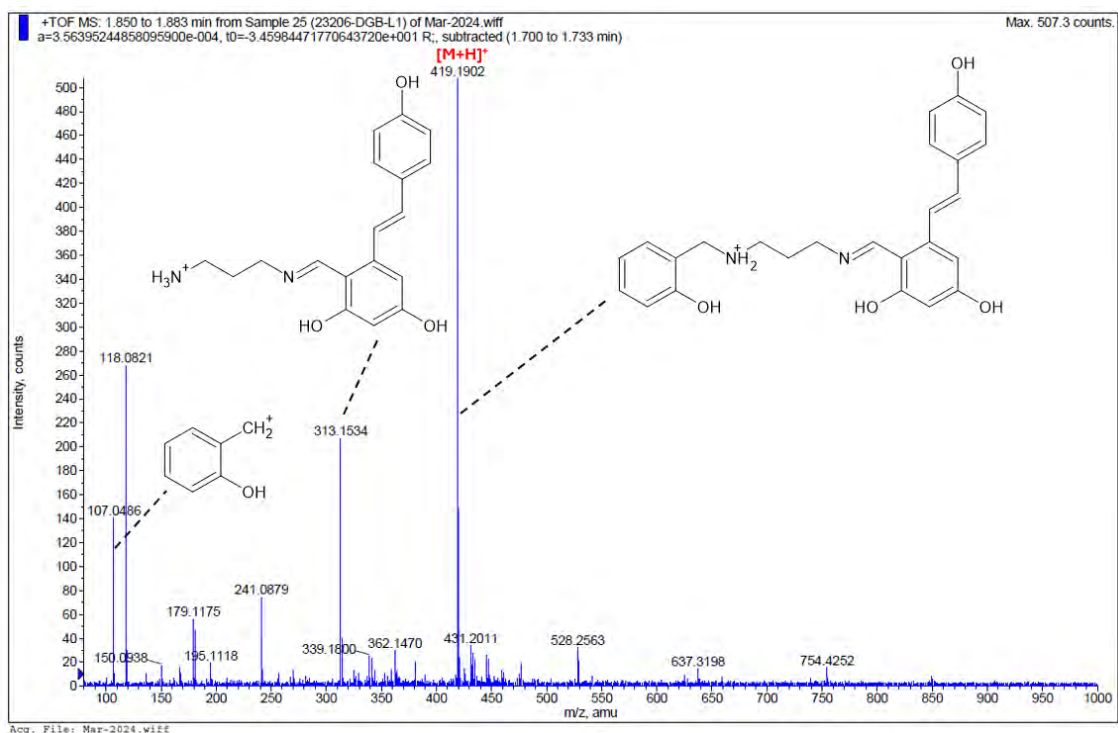


Figura 47: Espectro de masas de alta resolución del ligando **L**.

5.6. Síntesis y caracterización de **CuL**

5.6.1. Síntesis

La síntesis de **CuL** consistió en una reacción de complejamiento en la cual los átomos coordinantes del ligando enlazan al núcleo de cobre (II). La formación de dicho complejo comenzó con la disolución de 1 equivalente de **L** en metanol hasta obtener una mezcla turbia de color amarillo. Después se añadieron 2 equivalentes de NaOH para desprotonar los hidrógenos ácidos de los fenoles, lo cual mejoró la solubilidad y provocó que la mezcla adopte un color naranja oscuro translúcido. De esta forma, con los fenoles desprotonados y con los nitrógenos, se generan los cuatro puntos de coordinación necesarios para formar al complejo.

Después, se añadió una solución metanólica de acetato de cobre monohidratado para generar una reacción de sustitución de ligandos, en la cual los iones carboxilato fueron sustituidos por el compuesto **L**²⁻. Cuando la solución de cobre entró en contacto con el ligando se observó la formación del complejo de forma inmediata como un precipitado

marrón verdoso. Para acelerar el tiempo de reacción y mejorar el rendimiento se dejó la mezcla reaccionar por 3 horas a una temperatura de ~ 70 °C. El precipitado empezó a formarse a los pocos minutos de comenzar la reacción, ya que el ligando L^{-2} poseía cuatro grupos donadores de electrones que rápidamente reaccionaron con el Cu(II) debido a su naturaleza como ácido intermedio. De igual manera, esta reacción también fue favorecida por el efecto quelato, ya que L^{-2} es un ligando tetradentado que reemplaza a los iones carboxilato monodentados y permite la formación de un complejo de coordinación con mayor estabilidad.

Pasadas las 3 horas, el seguimiento por TLC muestra que el ligando L ha sido consumido en su totalidad indicando el fin de la reacción. Se obtuvo una mezcla bastante turbia de color marrón que fue rotaevaporada hasta la mitad de su volumen. Asimismo, también se le añadió agua desionizada y se dejó reposar en una nevera para seguir promoviendo la precipitación. La mezcla de reacción fue filtrada y lavada con agua desionizada para limpiar pequeños remanentes del sobrenadante. El producto final fue un sólido marrón verdoso que fue secado en una línea de vacío y luego caracterizado por distintas técnicas espectroscópicas.

5.6.2. Caracterización

5.6.2.1. Espectroscopia infrarroja

El complejo CuL fue analizado mediante espectroscopia FTIR y su espectro respectivo se muestra en la Figura 48 junto con su estructura molecular. En él, se aprecia una señal a 3232.20 cm^{-1} que corresponde al estiramiento de los enlaces O-H y N-H presentes en la molécula. Asimismo, las bandas alrededor de 2926.32 cm^{-1} corresponden al estiramiento de los enlaces C-H presentes en la cadena alifática y en los anillos aromáticos. Los enlaces aromáticos C-C también generan un grupo de señales en el rango de 1449.09 a 1512.25 cm^{-1} . Asimismo, se aprecia un pico a 1594.60 cm^{-1} que es producido por el

estiramiento del enlace C=C que une a los anillos aromáticos. Por otro lado, la señal a 1562.19 cm^{-1} se produce por el estiramiento del enlace C=N presente en el grupo imina.

Asimismo, en la Figura 49 se muestra una comparación entre los espectros FTIR de **CuL** y **L** en donde se aprecia que el pico C=N del complejo disminuye su desplazamiento en 65.4 cm^{-1} en comparación al ligando. Ello sucede principalmente porque el metal dona densidad electrónica desde sus orbitales d semillenos hacia un orbital antienlazante del ligando, el cual al estar desocupado actúa como un aceptor π , en un fenómeno que se conoce como retrodonación π . En este caso, el grupo imina actúa como un buen aceptor π y recibe la densidad electrónica del metal en los orbitales antienlazantes del nitrógeno generando una reducción en el orden de enlace y en el número de onda.²⁸

La disminución del número de onda de la señal imina sugiere que la reacción de complejamiento ha sido exitosa: este es un efecto muy común en la química de coordinación.

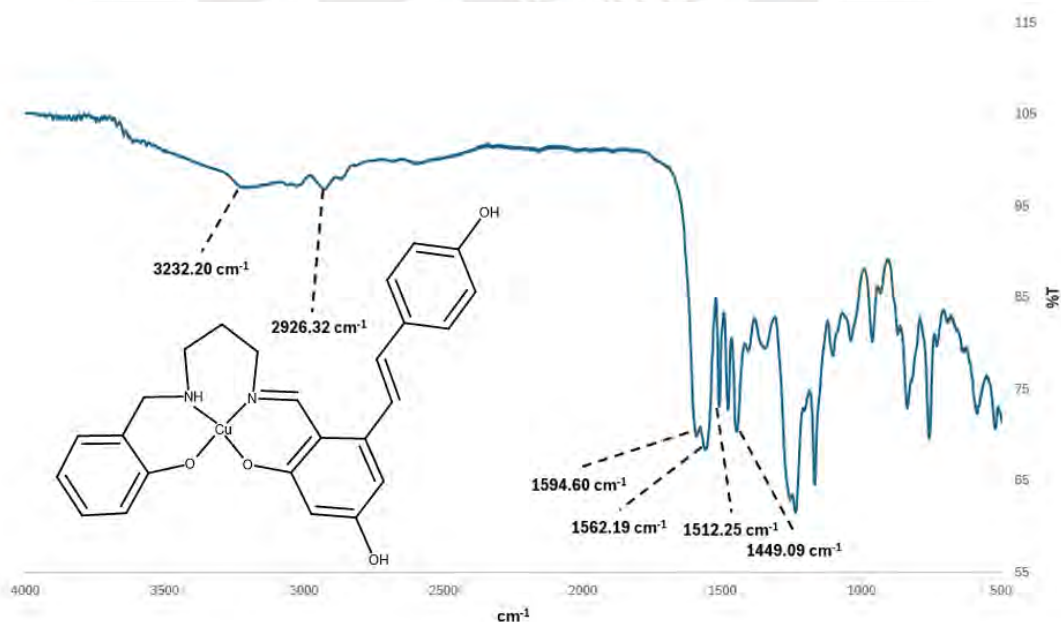


Figura 48: Espectro FTIR del complejo **CuL**.

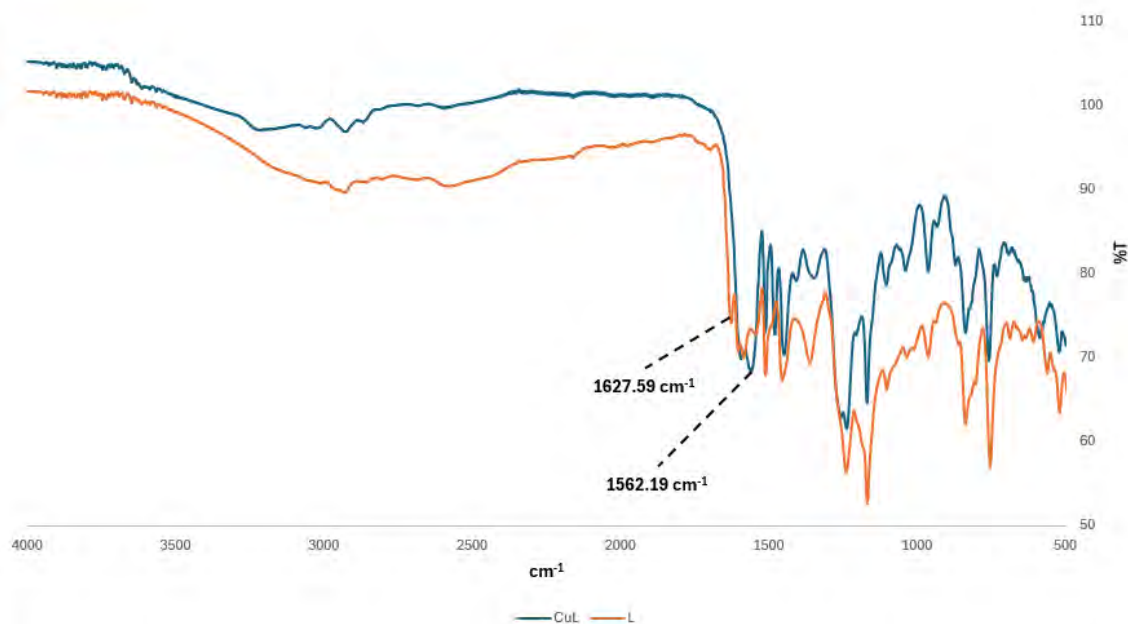


Figura 49. Espectros FTIR de los compuestos **CuL** (azul) y **L** (naranja).

5.6.2.2. Espectroscopia UV-Vis

Para continuar con la caracterización de **CuL** se realizó también un análisis por espectroscopia UV-Vis. En este, se recopilaron los espectros UV-Vis del complejo **CuL** y del ligando **L** disueltos en una mezcla de DMSO y metanol (0.5:99.5). En la Figura 50 se presenta el solapamiento de ambas curvas en un rango de 250 a 500 nm, ya que en dicho rango se ubican las señales de interés.

En primer lugar, se observan dos señales a 282 y 285 nm, en las cuales el pico de **CuL** mantiene un desplazamiento batocrómico de 3 nm respecto al ligando. Por otro lado, en los picos a 332 y 337 nm se observa un desplazamiento hipsocrómico de **CuL**, ya que la señal del complejo disminuye en 5 nm. Por último, una de las diferencias más importantes se aprecia en el rango visible con la señal de 416 nm de **L** que desaparece en el espectro de **CuL**. Estas diferencias indican que ha habido cambios en los niveles de energía de ambas moléculas, debido al complejamiento del cobre por parte del ligando.

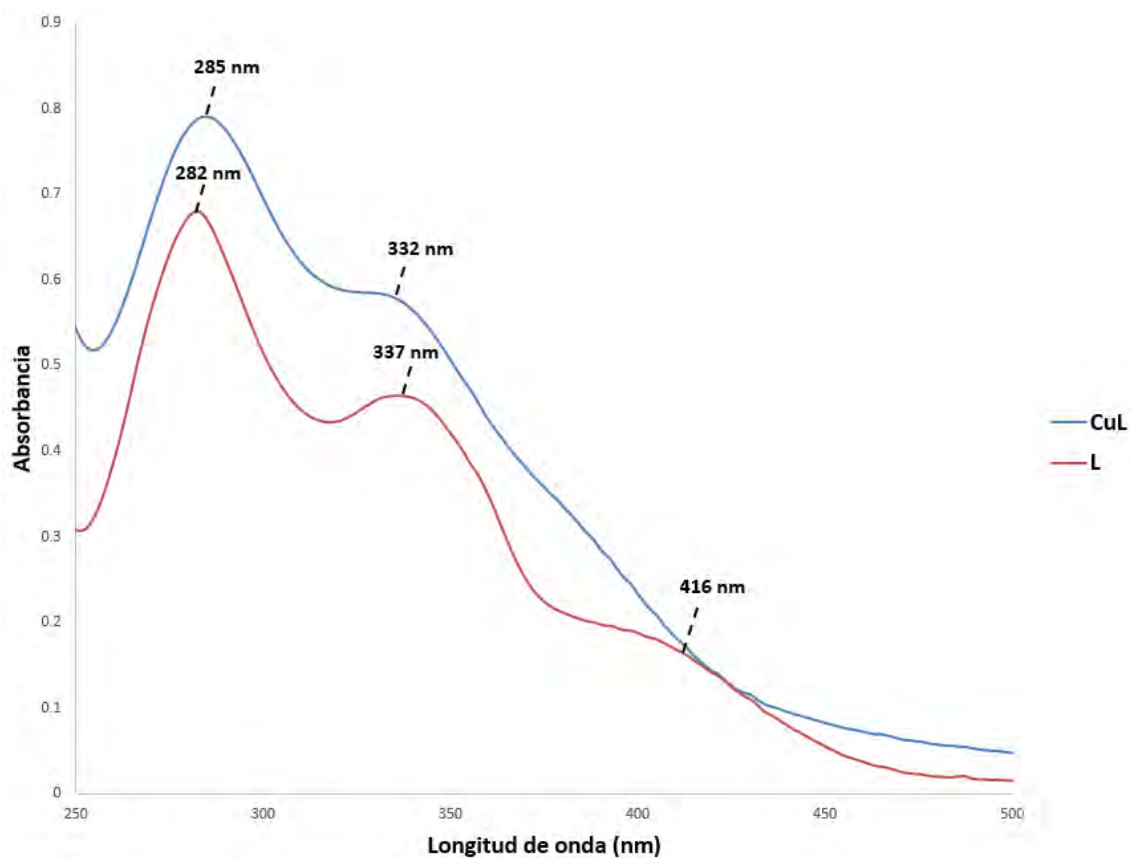


Figura 50: Espectros UV-Vis del compuesto **CuL** (azul) y **L** (rojo).

5.6.2.3. Espectrometría de masas

El complejo **CuL** también fue analizado mediante espectrometría de masas de alta resolución y su espectro correspondiente se muestra en la Figura 51. Dicho complejo posee una fórmula molecular de $C_{25}H_{24}CuN_2O_4$ y su catión $[M+H]^+$ mantiene una masa estimada de 480.1105 Da que es concordante con la señal observada a 480.1108 m/z. Dicha señal corresponde a la molécula con el isótopo de cobre-63, el cual es el más abundante de este elemento. Asimismo, también se aprecia otra señal a 482.1097 m/z que correspondería a la molécula con el isótopo de cobre-65, el cual mantiene una intensidad menor a la del complejo de cobre-63. Las abundancias relativas del cobre-65 y cobre-63 son de 30.826 y 69.174%,⁴³ respectivamente, por lo que mantienen una relación teórica de 0.447. De acuerdo con el espectro de masas de **CuL**, las abundancias de los isótopos

del cobre mantienen una relación experimental de 0.496. Por ello, se afirma que la abundancia isotópica experimental es similar al valor teórico.

Se observa que la señal de 419.1902 m/z correspondiente al ligando ha desaparecido prácticamente en su totalidad, lo cual indica que todas las moléculas de **L** han reaccionado con los núcleos de Cu(II) mediante una reacción de complejamiento. La ausencia de dicha señal y la presencia de los picos 480.1108 y 482.1097 m/z son una prueba contundente de que el complejo **CuL** ha sido sintetizado satisfactoriamente. De igual manera, estas dos señales poseen intensidades notablemente mayores al resto de picos, lo cual indica que el producto mantiene también un alto nivel de pureza.

En resumen, todas las pruebas de caracterización realizadas indican que el complejo **CuL** posee la estructura propuesta y que fue obtenido con un alto rendimiento e índice de pureza.

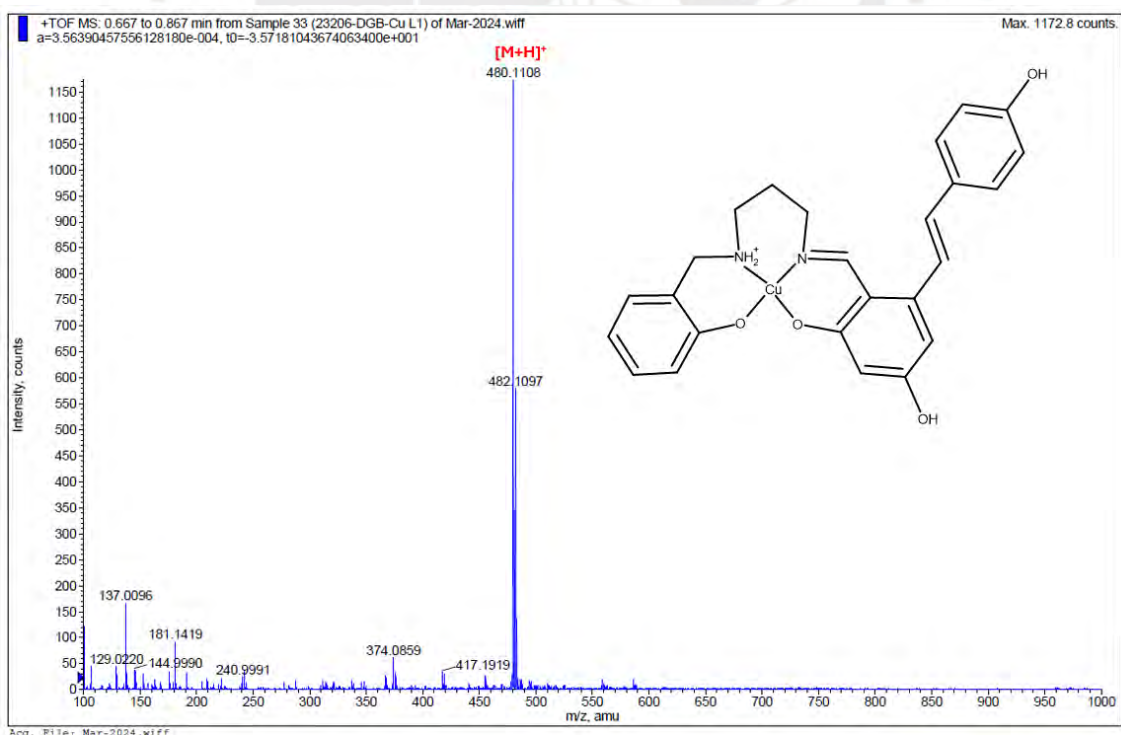


Figura 51: Espectro de masas de alta resolución del complejo **CuL**.

6. Conclusiones

De acuerdo con los resultados obtenidos y con la discusión realizada se concluye que:

- Se lograron sintetizar los intermediarios **A**, **B**, **C** y **D** con rendimientos de 95, 90, 99 y 50%, respectivamente. Asimismo, las pruebas analíticas realizadas señalan que todos estos intermediarios poseen las estructuras propuestas con niveles de pureza bastante elevados.
- Se logró sintetizar al ligando asimétrico **L** con un rendimiento del 40%, dicho ligando fue formado a partir de una reacción de adición nucleofílica entre los precursores **C** y **D**. El producto **L** fue purificado en una columna cromatográfica de sílica gel que, si bien lograba purificar el producto, también era muy afín al compuesto **L**, lo cual ocasionaba que una gran proporción se pierda en la columna. Por ello, para proyectos futuros con dicho ligando se recomienda realizar una purificación en una columna preparativa de fase reversa.
- Se realizó la caracterización completa del ligando **L** mediante las técnicas de RMN, FTIR, UV-Vis y HRMS, en donde los espectros obtenidos señalan que el compuesto posee la estructura propuesta con un alto nivel de pureza.
- Se logró sintetizar al complejo **CuL** con un rendimiento del 85% mediante una reacción de complejamiento entre el ligando **L** y una solución de acetato de cobre monohidratado.
- Se realizó la caracterización del complejo **CuL** mediante las técnicas de espectroscopia FTIR, UV-Vis y HRMS. A partir del análisis de los espectros obtenidos se concluye que el producto **CuL** posee la estructura propuesta con un nivel de pureza bastante elevado.
- Por último, se espera que en trabajos futuros sea posible estudiar las propiedades bioquímicas del complejo **CuL** para determinar su selectividad por las placas A β

y su permeabilidad a través de la BBB en comparación a otros complejos de Cu(II) reportados en la literatura.



7. Bibliografia

- (1) Kepp, K. P. Bioinorganic Chemistry of Alzheimer ' s Disease. *Chem. Rev.* **2012**, *112* (10), 5193–5239. <https://doi.org/10.1021/cr300009x>.
- (2) Gaeta, A.; Hider, R. C. The Crucial Role of Metal Ions in Neurodegeneration: The Basis for a Promising Therapeutic Strategy. *Br. J. Pharmacol.* **2005**, *146* (8), 1041–1059. <https://doi.org/10.1038/sj.bjp.0706416>.
- (3) Vermunt, L.; Sikkes, S. A. M.; van den Hout, A.; Handels, R.; Bos, I.; van der Flier, W. M.; Kern, S.; Ousset, P. J.; Maruff, P.; Skoog, I.; Verhey, F. R. J.; Freund-Levi, Y.; Tsolaki, M.; Wallin, Å. K.; Olde Rikkert, M.; Soininen, H.; Spuru, L.; Zetterberg, H.; Blennow, K.; Scheltens, P.; Muniz-Terrera, G.; Visser, P. J.; Vellas, B.; Reynish, E.; Ousset, P. J.; Andrieu, S.; Burns, A.; Pasquier, F.; Frisoni, G.; Salmon, E.; Michel, J. P.; Zekry, D. S.; Boada, M.; Dartigues, J. F.; Olde-Rikkert, M. G. M.; Rigaud, A. S.; Winblad, B.; Malick, A.; Sinclair, A.; Frölich, L.; Scheltens, P.; Ribera, C.; Touchon, J.; Robert, P.; Salva, A.; Waldemar, G.; Bullock, R.; Tsolaki, M.; Rodriguez, G.; Spuru, L.; Jones, R. W.; Stiens, G.; Stoppe, G.; Eriksdotter Jönhagen, M.; Cherubini, A.; Lage, P. M.; Gomez-Isla, T.; Camus, V.; Agüera-Morales, E.; Lopez, F.; Savy, S.; Cantet, C.; Coley, N. Duration of Preclinical, Prodromal, and Dementia Stages of Alzheimer's Disease in Relation to Age, Sex, and APOE Genotype. *Alzheimer's Dement.* **2019**, *15* (7), 888–898. <https://doi.org/10.1016/j.jalz.2019.04.001>.
- (4) Scharre, D. Preclinical, Prodromal, and Dementia Stages of Alzheimer's Disease. **2019**, 36–42. <https://practicalneurology.com/articles/2019-june/preclinical-prodromal-and-dementia-stages-ofalzheimers-disease/pdf>.
- (5) Reitz, C. Alzheimer's Disease and the Amyloid Cascade Hypothesis: A Critical Review. *Int. J. Alzheimers. Dis.* **2012**, *2012*, 1–12. <https://doi.org/10.1155/2012/369808>.
- (6) Barage, S. H.; Sonawane, K. D. Amyloid Cascade Hypothesis: Pathogenesis and Therapeutic Strategies in Alzheimer's Disease. *Neuropeptides* **2015**, *52*, 1–18. <https://doi.org/10.1016/j.npep.2015.06.008>.
- (7) Korczyn, A. D. The Amyloid Cascade Hypothesis. *Alzheimer's Dement.* **2008**, *4* (3), 176–178. <https://doi.org/10.1016/j.jalz.2007.11.008>.
- (8) Emerit, J.; Edeas, M.; Bricaire, F. Neurodegenerative Diseases and Oxidative Stress. *Biomed. Pharmacother.* **2004**, *58* (1), 39–46. <https://doi.org/10.1016/j.biopha.2003.11.004>.
- (9) Nunomura, A.; Castellani, R. J.; Zhu, X.; Moreira, P. I.; Perry, G.; Smith, M. A. Involvement of Oxidative Stress in Alzheimer Disease. *J. Neuropathol. Exp. Neurol.* **2006**, *65* (7), 631–641. <https://doi.org/10.1097/01.jnen.0000228136.58062.bf>.
- (10) Zhao, Z. Iron and Oxidizing Species in Oxidative Stress and Alzheimer's Disease. *Aging Med.* **2019**, *2* (2), 82–87. <https://doi.org/10.1002/agm2.12074>.
- (11) Eskici, G.; Axelsen, P. H. Copper and Oxidative Stress in the Pathogenesis of Alzheimer's Disease. *Biochemistry* **2012**, *51* (32), 6289–6311. <https://doi.org/10.1021/bi3006169>.

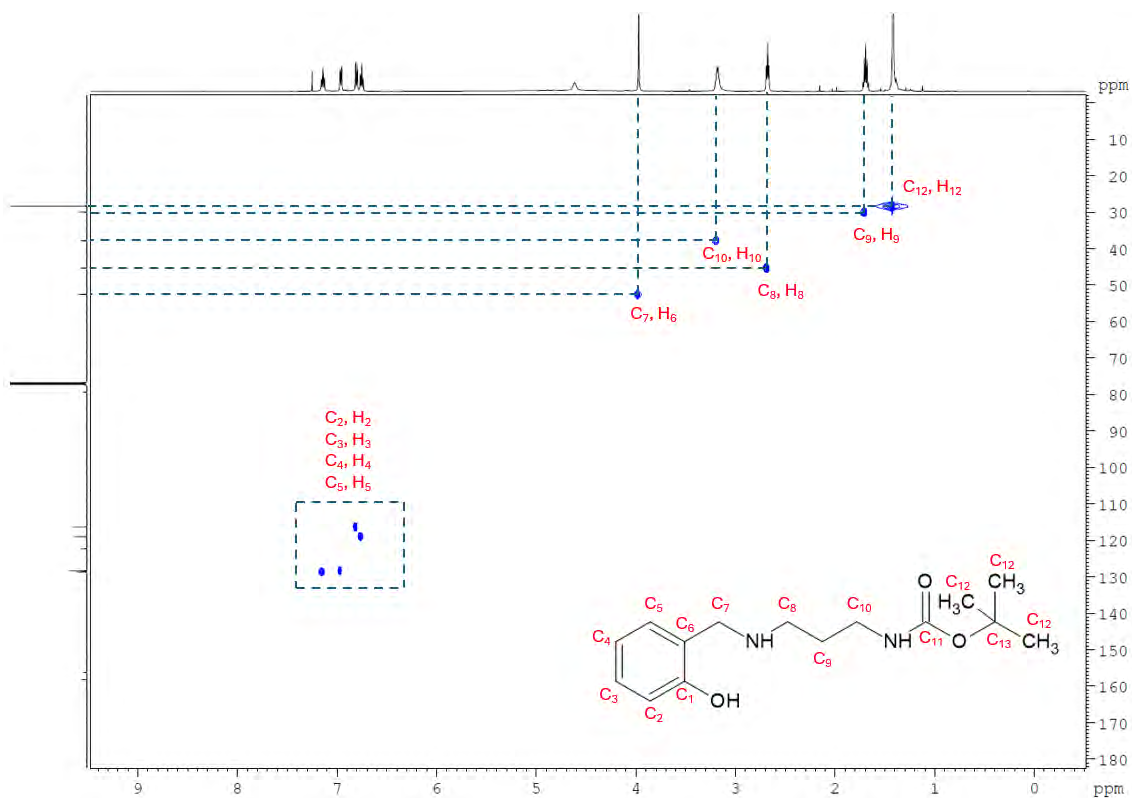
- (12) Castellani, R. J.; Moreira, P. I.; Liu, G.; Dobson, J.; Perry, G.; Smith, M. A.; Zhu, X. Iron: The Redox-Active Center of Oxidative Stress in Alzheimer Disease. *Neurochem. Res.* **2007**, *32* (10), 1640–1645. <https://doi.org/10.1007/s11064-007-9360-7>.
- (13) Mathys, Z. K.; White, A. R. Copper and Alzheimer ' s Disease Copper and Alzheimer ' s Disease. **2018**, No. June, 143–158. <https://doi.org/10.1007/978-3-319-60189-2>.
- (14) Kozłowski, H.; Luczkowski, M.; Remelli, M.; Valensin, D. Copper, Zinc and Iron in Neurodegenerative Diseases (Alzheimer's, Parkinson's and Prion Diseases). *Coord. Chem. Rev.* **2012**, *256* (19–20), 2129–2141. <https://doi.org/10.1016/j.ccr.2012.03.013>.
- (15) McInnes, L. E.; Noor, A.; Kysenius, K.; Cullinane, C.; Roselt, P.; McLean, C. A.; Chiu, F. C. K.; Powell, A. K.; Crouch, P. J.; White, J. M.; Donnelly, P. S. Potential Diagnostic Imaging of Alzheimer's Disease with Copper-64 Complexes That Bind to Amyloid- β Plaques. *Inorg. Chem.* **2019**, *58* (5), 3382–3395. <https://doi.org/10.1021/acs.inorgchem.8b03466>.
- (16) Noor, A.; Hayne, D. J.; Lim, S. C.; Van Zuylekom, J. K.; Cullinane, C.; Roselt, P. D.; McLean, C. A.; White, J. M.; Donnelly, P. S. Copper Bis(Thiosemicarbazonato)-Stilbenyl Complexes That Bind to Amyloid- β Plaques. *Inorg. Chem.* **2020**, *59* (16), 11658–11669. <https://doi.org/10.1021/acs.inorgchem.0c01520>.
- (17) Tai, Y. F.; Piccini, P. Applications of Positron Emission Tomography (PET) in Neurology. *J. Neurol. Neurosurg. Psychiatry* **2004**, *75* (5), 669–676. <https://doi.org/10.1136/jnnp.2003.028175>.
- (18) Martí-Bonmatí, L.; Sopena, R.; Bartumeus, P.; Sopena, P. Multimodality Imaging Techniques. *Contrast Media Mol. Imaging* **2010**, *5* (4), 180–189. <https://doi.org/10.1002/cmml.393>.
- (19) Nordberg, A.; Rinne, J. O.; Kadir, A.; Lngström, B. The Use of PET in Alzheimer Disease. *Nat. Rev. Neurol.* **2010**, *6* (2), 78–87. <https://doi.org/10.1038/nrneurol.2009.217>.
- (20) Sharma, A. K.; Schultz, J. W.; Prior, J. T.; Rath, N. P.; Mirica, L. M. Coordination Chemistry of Bifunctional Chemical Agents Designed for Applications in ^{64}Cu PET Imaging for Alzheimer's Disease. *Inorg. Chem.* **2017**, *56* (22), 13801–13814. <https://doi.org/10.1021/acs.inorgchem.7b01883>.
- (21) Hickey, J. L.; Lim, S.; Hayne, D. J.; Paterson, B. M.; White, J. M.; Villemagne, V. L.; Roselt, P.; Binns, D.; Cullinane, C.; Jeffery, C. M.; Price, R. I.; Barnham, K. J.; Donnelly, P. S. Diagnostic Imaging Agents for Alzheimer's Disease: Copper Radiopharmaceuticals That Target A β Plaques. *J. Am. Chem. Soc.* **2013**, *135* (43), 16120–16132. <https://doi.org/10.1021/ja4057807>.
- (22) Bandara, N.; Sharma, A. K.; Krieger, S.; Schultz, J. W.; Han, B. H.; Rogers, B. E.; Mirica, L. M. Evaluation of ^{64}Cu -Based Radiopharmaceuticals That Target A β Peptide Aggregates as Diagnostic Tools for Alzheimer's Disease. *J. Am. Chem. Soc.* **2017**, *139* (36), 12550–12558. <https://doi.org/10.1021/jacs.7b05937>.

- (23) Cho, H. J.; Huynh, T. T.; Rogers, B. E.; Mirica, L. M. Design of a Multivalent Bifunctional Chelator for Diagnostic ^{64}Cu PET Imaging in Alzheimer's Disease. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* **2020**, *117* (49), 30928–30933. <https://doi.org/10.1073/pnas.2014058117>.
- (24) Wang, Y.; Huynh, T. T.; Cho, H.-J.; Wang, Y.-C.; Rogers, B. E.; Mirica, L. M. Amyloid β -Binding Bifunctional Chelators with Favorable Lipophilicity for ^{64}Cu Positron Emission Tomography Imaging in Alzheimer's Disease. *Inorg. Chem.* **2021**, *60* (16), 12610–12620. <https://doi.org/10.1021/acs.inorgchem.1c02079>.
- (25) Stanojević, I. M.; Glišić, B.; Radanović, D. D.; Djuran, M. I. Copper(II) Complexes of Aminopolycarboxylate Ligands with N_2O_2 , N_2O_3 and N_2O_4 Donor Sets. The Relationship between the Ligand Structure and Molecular Geometry of the Complex. *J. Mol. Struct.* **2021**, *1232*. <https://doi.org/10.1016/j.molstruc.2021.130001>.
- (26) Gambini, J.; López-Grueso, R.; Olaso-González, G.; Inglés, M.; Abdelazid, K.; El Alami, M.; Bonet-Costa, V.; Borrás, C.; Viña, J. Resveratrol: Distribución, Propiedades y Perspectivas. *Rev. Esp. Geriatr. Gerontol.* **2013**, *48* (2), 79–88. <https://doi.org/10.1016/j.regg.2012.04.007>.
- (27) Watanabe, H.; Ono, M.; Iikuni, S.; Yoshimura, M.; Matsumura, K.; Kimura, H.; Saji, H. A ^{68}Ga Complex Based on Benzofuran Scaffold for the Detection of β -Amyloid Plaques. *Bioorganic Med. Chem. Lett.* **2014**, *24* (20), 4834–4837. <https://doi.org/10.1016/j.bmcl.2014.08.058>.
- (28) Gonzales, D. Síntesis y Caracterización de Compuestos de Coordinación de Cobre Con Ligandos Derivados Del Resveratrol de Importancia En La Detección Temprana Del Mal Del Alzheimer. Pontificia Universidad Católica del Perú. **2021**. <https://tesis.pucp.edu.pe/repositorio/handle/20.500.12404/21137>.
- (29) Uehara, D. Diseño, Síntesis y Caracterización de Compuestos de Coordinación de Cobre (II) Derivados de Estilbeno, Afines a Las Placas Amiloides, Con Potencial Como Agentes de Radiodiagnóstico de Alzheimer. **2022**. Pontificia Universidad Católica del Perú. <https://tesis.pucp.edu.pe/repositorio/handle/20.500.12404/23859>.
- (30) Dardonville, C.; Fernandez-Fernandez, C.; Gibbons, S. L.; Ryan, G. J.; Jagerovic, N.; Gabilondo, A. M.; Meana, J. J.; Callado, L. F. Synthesis and Pharmacological Studies of New Hybrid Derivatives of Fentanyl Active at the μ -Opioid Receptor and I2-Imidazoline Binding Sites. *Bioorganic Med. Chem.* **2006**, *14* (19), 6570–6580. <https://doi.org/10.1016/j.bmc.2006.06.007>.
- (31) Montero, A.; Goya, P.; Jagerovic, N.; Callado, L. F.; Meana, J. J.; Girón, R.; Goicoechea, C.; Martín, M. I. Guanidinium and Aminoimidazolium Derivatives of N-(4-Piperidyl)Propanamides as Potential Ligands for μ Opioid and I2-Imidazoline Receptors: Synthesis and Pharmacological Screening. *Bioorganic Med. Chem.* **2002**, *10* (4), 1009–1018. [https://doi.org/10.1016/S0968-0896\(01\)00356-X](https://doi.org/10.1016/S0968-0896(01)00356-X).

- (32) Amirbekyan, K.; Duchemin, N.; Benedetti, E.; Joseph, R.; Colon, A.; Markarian, S. A.; Bethge, L.; Vonhoff, S.; Klussmann, S.; Cossy, J.; Vasseur, J. J.; Arseniyadis, S.; Smietana, M. Design, Synthesis, and Binding Affinity Evaluation of Hoechst 33258 Derivatives for the Development of Sequence-Specific DNA-Based Asymmetric Catalysts. *ACS Catal.* **2016**, *6* (5), 3096–3105. <https://doi.org/10.1021/acscatal.6b00495>.
- (33) Devonport, J.; Spencer, J.; Kostakis, G. E. Breaking the Symmetry: C1-Salans with (N-H) Backbones. *Dalt. Trans.* **2021**, *50* (35), 12069–12073. <https://doi.org/10.1039/d1dt01950c>.
- (34) He, Y.; Cheng, C.; Chen, B.; Duan, K.; Zhuang, Y.; Yuan, B.; Zhang, M.; Zhou, Y.; Zhou, Z.; Su, Y.; Cao, R.; Qiu, L. Highly Enantioselective Synthesis of 2,3-Dihydro-1H-imidazo[2,1-a]isoindol-5(9bH)-ones via Catalytic Asymmetric Intramolecular Cascade Imidization–Nucleophilic Addition–Lactamization. **2014**, *5*, 16–19. <https://doi.org/10.1021/ol5031603>.
- (35) Ambeu, C. N.; Le Guével, R.; Corlu, A.; Mamyrbekova, J. A.; Bazureau, J. P. A Practical Multi-Step Synthesis of Ethyl N-Functionalized β -Amino Benzimidazole Acrylate Derivatives as Promising Cytotoxic Agents. *Mol. Divers.* **2018**, *22* (3), 685–708. <https://doi.org/10.1007/s11030-018-9824-5>.
- (36) Mansurova, M.; Koay, M. S.; Gärtner, W. Synthesis and Electrochemical Properties of Structurally Modified Flavin Compounds. *European J. Org. Chem.* **2008**, No. 32, 5401–5406. <https://doi.org/10.1002/ejoc.200800504>.
- (37) Yarlagadda, V.; Akkapeddi, P.; Manjunath, G. B.; Haldar, J. Membrane Active Vancomycin Analogues: A Strategy to Combat Bacterial Resistance. *J. Med. Chem.* **2014**, *57* (11), 4558–4568. <https://doi.org/10.1021/jm500270w>.
- (38) Yudovin-Farber, I.; Gurt, I.; Hope, R.; Domb, A. J.; Katz, E. Inhibition of Herpes Simplex Virus by Polyamines. *Antivir. Chem. Chemother.* **2009**, *20* (2), 87–98. <https://doi.org/10.3851/IMP1401>.
- (39) Mendelson, W. L.; Hayden, S. Preparation of 2,4-Dihydroxybenzaldehyde by the Vilsmeier-Haack Reaction. *Synth. Commun.* **1996**, *26* (3), 603–610. <https://doi.org/10.1080/00397919608003654>.
- (40) Córdova, D. Diseño, Síntesis y Caracterización de Complejos de Cobre Con Ligandos Derivados Del Benzotiazol, Posiblemente Afines a Placas Amiloides, Pontificia Universidad Católica del Perú. **2023**. <http://hdl.handle.net/20.500.12404/24329>.
- (41) Xavier, D. A.; Srividhya, N. Synthesis and Study of Schiff Base Ligands. *IOSR J. Appl. Chem.* **2014**, *7* (11), 06–15. <https://doi.org/10.9790/5736-071110615>.
- (42) Smith, B. C. Organic Nitrogen Compounds V: Amine Salts. **2019**, *34*, 30–37. <https://www.spectroscopyonline.com/view/organic-nitrogen-compounds-v-amine-salts>.
- (43) Albarède, F. The Stable Isotope Geochemistry of Copper and Zinc. *Rev. Mineral. Geochemistry* **2004**, *55* (2002), 409–427. <https://doi.org/10.2138/gsrng.55.1.409>.

8. Anexos

Anexo 1: Espectro HSQC del intermediario B



Anexo 2: Espectro HSQC del intermediario B amplificado de 110 a 135 ppm

