

PONTIFICIA UNIVERSIDAD CATÓLICA DEL PERÚ

FACULTAD DE CIENCIAS E INGENIERÍA



**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**

Tesis para obtener el título profesional de Licenciado en Química

AUTOR:

Diego Adrián Uehara Oshiro

ASESORA:

Dra. Paloma Friedda Salas Fernández


Lima, noviembre, 2022

Declaración jurada de autenticidad

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 tituladoDISEÑO, 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....., del/de la autor(a)/ de los(as) autores(as) Diego Adrián Uehara Oshiro.....,dejo constancia de lo siguiente:

- El mencionado documento tiene un índice de puntuación de similitud de 28 %. Así lo consigna el reporte de similitud emitido por el software *Turnitin* el 04/11/2022.
- 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, 24 de Noviembre de 2022.....

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

RESUMEN

En el presente trabajo se presenta la síntesis y caracterización de tres nuevos complejos de coordinación de cobre de fórmula general Cu(L)_{1-3} con los ligandos tipo base de Schiff derivados del estilbena. Estos complejos podrían ser considerados como potenciales agentes de radioimagen para el diagnóstico del Alzheimer por tomografía de emisión de positrones (PET), debido a la posible afinidad de los ligandos por las placas amiloides β .

El radioisótopo de ^{64}Cu es de interés en el desarrollo de radiofármacos empleados en PET, ya que presenta un tiempo de vida media y una energía de decaimiento β^+ óptimos en comparación con otros radionúcleos. Asimismo, este ion metálico suele incorporarse de forma sencilla, rápida, y eficiente en radiofármacos. En ese sentido, este trabajo consiste en la síntesis, purificación y caracterización de complejos de ^{63}Cu para sintetizar en un futuro los complejos de ^{64}Cu y probar su actividad biológica en agregados fibrilares amiloides β .

Los complejos de cobre (II) fueron sintetizados por el complejamiento entre el ion Cu(II) y los ligandos derivados del estilbena. Estos ligandos se obtuvieron por una serie de pasos sintéticos que se inició con un acoplamiento de Heck entre un bromuro de arilo y un vinil benceno, el cual fue generado *in situ* por la deshidratación selectiva de un alcohol secundario. Posteriormente, se realizó la condensación con la amina para la obtención del ligando base de Schiff.

Los ligandos derivados del estilbena y los complejos de cobre fueron caracterizados por técnicas espectroscópicas de infrarrojo (FTIR), espectroscopía ultravioleta visible (UV-VIS), resonancia magnética nuclear (RMN), espectrometría de masas de alta resolución (HRMS) y difracción de rayos X (XRD).

AGRADECIMIENTOS

En primer lugar, quiero agradecer a mis padres, Humberto y Carolina, por su apoyo incondicional y cariño a lo largo de toda mi carrera.

A mi asesora Paloma Salas por todas sus enseñanzas, confianza y cariño. Gracias a sus consejos y palabras de aliento que me permitieron terminar esta tesis y poder cumplir el sueño de estudiar en el extranjero.

Al Consejo Nacional de Ciencia, Tecnología e Innovación Tecnológica (CONCYTEC) por el financiamiento otorgado al proyecto PROCENCIA No.421-2019.

A la Sección Química por ser mi casa durante tantos años y permitirme el uso de sus equipos e instalaciones a lo largo de esta investigación. También, quisiera agradecer a todo el personal de mantenimiento y técnico de la Sección, en especial a Milka, Nico y Gilmer, por el apoyo brindado.

Al Dr. Juan López por su apoyo en el uso del RMN, sus buenos consejos y amistad.

Al Dr. Eric Price, Profesor del Departamento de Química de la Universidad de Saskatchewan, y a Cory Zaparaniuk, PhD. Candidate en Química de la misma universidad, por su ayuda en la medición de los HRMS y por las medidas de difracción de Rayos X de los compuestos.

A mis amigos de promoción, Marcelo Cevallos, Johan Farfán, Robert Ñañez y Josué Urcia, por todos los momentos vividos de alegría y de estrés a lo largo de la carrera.

A mis compañeros de laboratorio, Diego Córdova, Deborah Gonzales, David Grados y Silvia Valderrama por su amistad, buenas vibras y consejos que me motivaron a terminar esta investigación.

TABLA DE CONTENIDOS

1. MARCO TEÓRICO	1
1.1 Introducción a la enfermedad del Alzheimer	1
1.2 Bioquímica del Alzheimer	2
1.2.1 Placas amiloides	2
1.2.2 Hipótesis de la cascada amiloide	4
1.3 Diagnóstico basado en tomografía de emisión de positrones (PET)	5
1.3.1 Agentes de diagnóstico basados en ¹¹C y ¹⁸F	7
1.3.2 Agentes de diagnóstico basados en metales	9
1.3.2.1 Complejos de ⁶⁴Cu en exploración	11
1.4 Diseño de complejos de Cu(II) como potenciales agentes de radiodiagnóstico PET del Alzheimer	16
2. OBJETIVOS	18
2.1 Objetivo general	18
2.2 Objetivos específicos	18
3. DISEÑO DE SÍNTESIS DE CuL₁, CuL₂ y CuL₃	19
3.1 Etapa 1	20
3.2 Etapa 2	21
3.3 Etapa 3	21
4. PARTE EXPERIMENTAL	24
4.1 Reactivos y materiales	24
4.2 Equipos	24
4.3 Procedimiento de síntesis	25
3.3.1 Síntesis del intermediario I₁	25
3.3.2 Síntesis del intermediario I₂	26
3.3.3 Síntesis del ligando L₁	27
3.3.4 Síntesis del ligando L₂	27
3.3.5 Síntesis del ligando L₃	28
3.3.6 Síntesis de CuL₁	29
3.3.8 Síntesis de CuL₂	30
3.3.10 Síntesis de CuL₃	30
4 RESULTADOS Y DISCUSIÓN	32
4.1 Etapa 1: Síntesis y caracterización de I₁ e I₂	32
4.1.1 Síntesis de I₁ e I₂	32

4.1.2	Caracterización de I ₁ e I ₂	35
4.1.2.1	Espectroscopía infrarroja	35
4.1.2.2	Espectroscopía de resonancia magnética nuclear	37
4.2	Etapa 2: Síntesis y caracterización de L ₁₋₃	45
4.2.1	Síntesis de L ₁₋₃	45
4.2.2	Caracterización de L ₁₋₃	47
4.2.2.1	Espectroscopía infrarroja	48
4.2.2.2	Espectroscopía de resonancia magnética nuclear	49
4.2.2.3	Espectrometría de masas de alta resolución (HRMS)	56
4.3	Síntesis y caracterización de CuL ₁₋₃	58
4.3.1	Caracterización de CuL ₁₋₃	59
4.3.1.1	Espectroscopía infrarroja	59
4.3.1.2	Espectroscopía UV-vis	63
4.3.1.3	Espectrometría de masas de alta resolución (HRMS)	65
4.3.1.4	Difracción de rayos X (XRD)	69
5	CONCLUSIONES	72
6	BIBLIOGRAFÍA	73
7	ANEXOS	77

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1: Cambios en la concentración de los biomarcadores en relación con los estadios clínicos del Alzheimer.....	2
Figura 2: Representación tridimensional del bolsillo hidrofóbico de las placas A β (17-41).....	3
Figura 3: Representación esquemática de la hipótesis de la cascada amiloide.	5
Figura 4: Funcionamiento de la Tomografía de Emisión de Positrones (PET).....	6
Figura 5: Estructuras de moléculas estudiadas por su afinidad a las placas A β en cerebros de pacientes con AD postmortem.....	7
Figura 6: Vista axial del cerebro de un paciente con Alzheimer y de un control sano tomada usando [^{11}C]-PIB PET para cuantificar el contenido de placas A β	8
Figura 7: Vista axial del cerebro de un paciente con AD y de un control sano tomada usando [^{18}F]-AV-1 PET.....	8
Figura 8: Representación esquemática de los dos tipos de complejos metálicos empleados para el diagnóstico de Alzheimer	10
Figura 9: Estructuras químicas de los complejos de ^{64}Cu con ligandos tiosemicarbazona y tiosemicarbazona-piridilhidrazina estudiados para el diagnóstico de Alzheimer.....	12
Figura 10: Imagen por microscopía óptica de la sección del cerebro con AD marcada con el anticuerpo IE8 e imagen por microscopía epifluorescente de las placas A β marcadas con el $\text{Cu}^{\text{II}}\text{L}_2$	13
Figura 11: Estructuras químicas de los complejos de ^{64}Cu con ligandos tacn ((L_1) ^{64}Cu) y N_4 (($\text{L}_0\text{-L}_5$) ^{64}Cu) unidos al ligando 2-fenilbenzotiazol estudiados por su afinidad con las placas A β	14
Figura 12: Imágenes por PET de secciones del cerebro de ratones WT y transgénicos (Tg2576) en presencia de los complejos de $^{64}\text{Cu}(\text{II})$ y del agente competidor B1.....	15
Figura 13: Estructura química de tres complejos de $\text{Cu}(\text{II})$ propuestos en este trabajo de investigación	17
Figura 14: Análisis retrosintético de los complejos CuL_1 , CuL_2 y CuL_3	19
Figura 15: Reacciones de la Etapa 1 en la ruta sintética de I_1 y I_2	20
Figura 16: Reacciones de la Etapa 2 en la ruta sintética de L_{1-3}	21
Figura 17: Reacciones de la Etapa 3 en la ruta sintética de CuL_{1-3}	22
Figura 18: Ruta de síntesis de CuL_{1-3}	23
Figura 19: Propuesta del mecanismo de reacción de la deshidratación con PTA	32
Figura 20: Propuesta del mecanismo de reacción del acoplamiento de Heck	33

Figura 21: Propuesta del mecanismo de reacción del homoacoplamiento de los bromuros de arilo catalizado por Pd(0).....	34
Figura 22: Espectro FTIR de I ₁	36
Figura 23: Espectro FTIR de I ₂	37
Figura 24: Espectros ¹ H-RMN a 500 MHz de I ₁ en CDCl ₃	39
Figura 25: Espectros ¹ H-RMN a 500 MHz de I ₂ en CDCl ₃	40
Figura 26: Espectro bidimensional ¹ H- ¹ H COSY RMN de la región aromática de I ₁ en CDCl ₃	41
Figura 27: Espectro bidimensional ¹ H- ¹ H COSY RMN de la región aromática de I ₂ en CDCl ₃	41
Figura 28: Espectro ¹³ C-RMN a 125 MHz de I ₁ en CDCl ₃	43
Figura 29: Espectro ¹³ C-RMN a 125 MHz de I ₂ en CDCl ₃	43
Figura 30: Espectro bidimensional ¹ H- ¹³ C HSQC RMN de la región aromática de I ₁ en CDCl ₃	44
Figura 31: Espectro bidimensional ¹ H- ¹³ C HSQC RMN de la región aromática de I ₂ en CDCl ₃	44
Figura 32: Propuesta del mecanismo de reacción para la formación de los ligandos L ₁₋₃ del tipo bases de Schiff.....	45
Figura 33: Espectro FTIR de L ₁	48
Figura 34: Espectro FTIR de L ₂	49
Figura 35: Espectro FTIR de L ₃	49
Figura 36: Espectros ¹ H-RMN a 500 MHz de L ₂ en CDCl ₃	51
Figura 37: Espectros ¹ H-RMN a 500 MHz de L ₃ en CDCl ₃	52
Figura 38: Espectros ¹³ C-RMN a 125 MHz de L ₂ en CDCl ₃	54
Figura 39: Espectros ¹³ C-RMN a 125 MHz de L ₃ en CDCl ₃	55
Figura 40: Espectro HRMS mediante ionización por FD en modo positivo de L ₁	57
Figura 41: Espectro HRMS mediante ionización por FD en modo positivo de L ₂	57
Figura 42: Espectro FTIR de CuL ₁	61
Figura 43: Espectro FTIR de CuL ₂	61
Figura 44: Espectro FTIR de CuL ₃	62
Figura 45: Superposición de los espectros UV-vis de L ₁ y CuL ₁ en MeOH.....	63

Figura 46: Superposición de los espectros UV-vis de L_2 y CuL_2 en MeOH	64
Figura 47: Superposición de los espectros UV-vis de L_3 y CuL_3 en MeOH	64
Figura 48: Espectro HRMS mediante ionización por FD en modo positivo de CuL_1	66
Figura 49: Espectro HRMS mediante ionización por FD en modo positivo de CuL_2	67
Figura 50: Espectro HRMS mediante ionización por FD en modo positivo de CuL_3	68
Figura 51: Representaciones ORTEP del complejo CuL_2	69



ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1: Constantes de inhibición (K_i) de varios compuestos determinadas en placas $A\beta$ en cerebros de pacientes con AD postmortem.....	8
Tabla 2: Datos cristalográficos de CuL_2	70
Tabla 3: Principales longitudes y ángulos de enlace en el complejo CuL_2	71



ABREVIATURAS

^1H -RMN	Resonancia Magnética Nuclear de protón
^{13}C -RMN	Resonancia Magnética Nuclear de carbono
α -SN	α -sinucleína
A β	Amiloide β
ACN	Acetonitrilo
AD	Enfermedad del Alzheimer
APP	Proteína amiloide precursora
astm	Ligando bis(tiosemicarbazona)
ATR	Reflectancia total atenuada
BBB	Barrera hematoencefálica
BFCA	Agentes quelatos bifuncionales
CAA	Angiopatía amiloide cerebral
CCD	Cromatografía de capa delgada
CDC	Centro de Control y Prevención de Enfermedades de los Estados Unidos
CG	Cristamina G
COSY	Espectroscopía de correlación
DMF	N,N-dimetilformamida
DMSO	Dimetil sulfóxido
[^{18}F]-AV-1	Florbetaben
[^{18}F]-AV-45	Florbetapir
FDA	Administración de Alimentos y Medicamentos de los Estados Unidos
FT-IR	Espectroscopía infrarroja por transformada de Fourier
GSK-3 β	Quinasa Glicógeno Sintasa 3 Beta
HRMS	Espectrometría de masas de alta resolución
HSQC	Espectroscopía de Correlación Heteronuclear Cuántica Simple
IL	Interluquina
K _i	Constante de inhibición
N4	2,11-diaza[3,3]-(2,6)piridinofano
NEt ₃	Trietilamina
NFTs	Ovillos neurofibrilares
P	Coefficiente de partición entre una fase lipofílica y una fase hidrofílica
PET	Tomografía de emisión de positrones
pH	Potencial de hidrógeno
PIB	Compuesto B de Pittsburgh
PS1	Presenil-1
PTA	Ácido fosfotúngstico
RMN	Resonancia magnética nuclear
SNC	Sistema nervioso central
tacn	1,4,7-triazaciclononano
ThT	Tioflavinas T
Uv-vis	Espectroscopía de absorción ultravioleta-visible
XRD	Difracción de rayos X

1. MARCO TEÓRICO

1.1 Introducción a la enfermedad del Alzheimer

La enfermedad del Alzheimer (AD) es un desorden neurodegenerativo progresivo e incurable que causa una disfunción sináptica y muerte neuronal en el paciente.¹⁻³ En la actualidad, esta patología es la forma más común de demencia que afecta aproximadamente a 46 millones de personas en el mundo. Lamentablemente, se prevé que para el año 2040 esta cifra se duplique a 81.1 millones de afectados, lo cual generaría grandes problemas en los sistemas de salud a nivel mundial.^{4,5}

A pesar de que el estado y otras entidades americanas invierten cientos de billones de dólares anuales para la atención médica de pacientes con demencia, EE. UU es uno de los países que presenta la tasa de mortalidad más alta por AD a nivel mundial. De acuerdo con los datos del Centro de Control y Prevención de Enfermedades de los Estados Unidos (CDC), en el 2018, se reportaron 122 019 fallecidos por Alzheimer, lo cual posiciona a esta patología como la sexta causa de muerte en ese país, superando las muertes que deja el cáncer de próstata y mama juntos.⁶ Asimismo, en el Perú, el Ministerio de Salud reportó en el año 2019 que más de 200 000 peruanos mayores de 60 años padecían de esta enfermedad.⁷

La enfermedad del Alzheimer, al ser neurodegenerativa, comienza con cambios biológicos imperceptibles en el cerebro, los cuales no causan ningún síntoma en el paciente. Sin embargo, luego de algunos años, la persona afectada empieza a tener problemas de memoria, atención, dificultad en el lenguaje, cambios de personalidad y eventualmente, pérdida de la capacidad motora. Esto le impide realizar sus actividades cotidianas con normalidad como bañarse, vestirse y comer, por lo que necesita del cuidado de otra persona las 24 horas del día. En la última fase de esta enfermedad, el individuo está todo el tiempo en cama, por lo que es usual que desarrolle coágulos sanguíneos, enfermedades a la piel, sepsis e incluso podría tener una insuficiencia orgánica. También es posible que el paciente presente un cuadro de neumonía por aspiración, el cual es una de las principales causas de muerte en el AD.^{3,6,8}

El grado de magnitud de estos síntomas conforme se desarrolla esta patología, refleja un mayor daño en las neuronas y tejido cerebral del paciente. El tiempo de vida promedio en personas

mayores de 65 años que son diagnosticadas con AD es entre 4-8 años; no obstante, se han reportado casos en que personas llegan a vivir más de 20 años con esta enfermedad.⁶

1.2 Bioquímica del Alzheimer

La acumulación de la proteína amiloide β ($A\beta$) en forma de placas extracelulares y la formación de ovillos neurofibrilares (NFTs) intracelulares son dos de los principales biomarcadores que estarían asociados con esta enfermedad. Sin embargo, las placas $A\beta$ pueden aparecer hasta 20 años antes de que el paciente presente algún síntoma; a esta etapa del AD se le denomina fase preclínica. Conforme la enfermedad va progresando se incrementa la concentración de placas $A\beta$ y NFTs, los cuales serían responsables del daño neuronal y la pérdida de la actividad sináptica (**Figura 1**).⁹

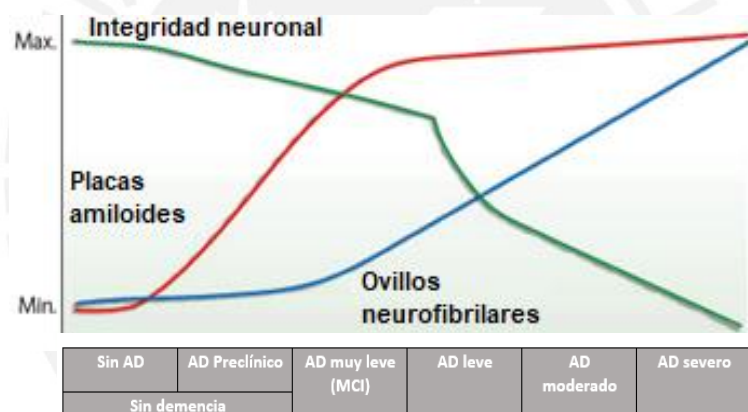


Figura 1: Cambios en la concentración de los biomarcadores en relación con los estadios clínicos del Alzheimer (Adaptado de 10).

En ese sentido, es posible realizar un diagnóstico antes de ocurra el daño neurodegenerativo en el paciente mediante la detección temprana de estos biomarcadores.¹⁰ Para ello, a continuación, se describirán cómo es que estos biomarcadores juegan un rol esencial en la fisiopatología de la enfermedad del Alzheimer.

1.2.1 Placas amiloides

La proteína amiloide β está conformada por péptidos de 39-43 aminoácidos, los cuales son generados a partir del procesamiento proteolítico de la proteína precursora amiloide (APP).¹¹

La degradación de esta proteína ocurre por la escisión por β -secretasa y, posteriormente, por γ -secretasa para dar lugar al péptido amiloide β extracelular, el cual presenta dos isomorfos: $A\beta$ -40 (90%) y $A\beta$ -42 (10%).^{1,12}

El daño causado por las placas $A\beta$ en el cerebro dependerá de la longitud del péptido, la especie $A\beta$ -42 sería la más tóxica, debido a que sus dos residuos hidrofóbicos (I41 y A42) favorecerían termodinámicamente y cinéticamente la formación de las placas amiloides.^{13,14} Los monómeros $A\beta$ en su estado nativo tienen una conformación intrínsecamente desordenada con hélices α y hojas β . Sin embargo, durante el proceso de agregación, el núcleo lipofílico de la proteína (KLVFF) y el extremo C-terminal forman rápidamente hojas β a través de interacciones hidrofóbicas y apilamiento- π (Leu17, Val18, Phe19 Phe20, Ala21, Val24, etc.) (**Figura 2**).¹³ Esta agregación ocurre por mecanismos de nucleación, donde el monómero $A\beta$ -42 empieza a formar estructuras ordenadas: oligómeros, protofibrillas, fibrillas y placas.^{1,15}

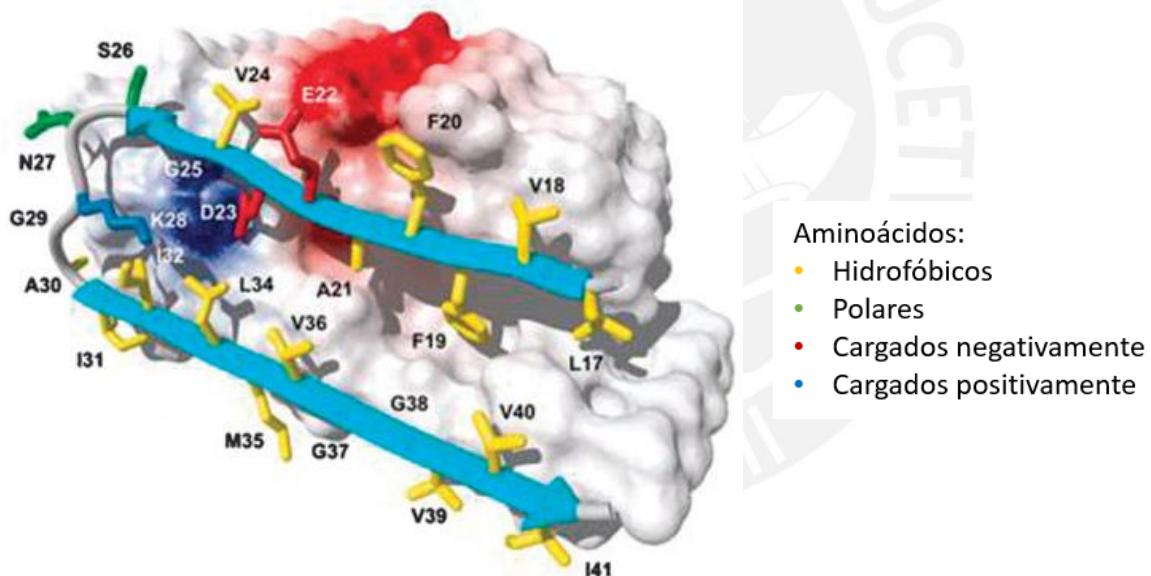


Figura 2: Representación tridimensional del bolsillo hidrofóbico de las placas $A\beta$ (17-41), donde las hojas β se encuentran indicadas por las dos flechas celestes. Las cadenas laterales de los aminoácidos hidrofóbicos, polares, cargados negativamente y cargados positivamente se muestran en la leyenda.¹⁶

Sin embargo, algunos estudios bioquímicos proponen que los oligómeros solubles serían las estructuras más tóxicas, por lo que la formación de fibrillas $A\beta$ sería una manera del organismo de contrarrestar el daño neuronal.¹⁷ Por otro lado, numerosos estudios *postmortem* en cerebros con AD han encontrado una gran deposición de placas amiloides en el hipocampo, región encargada de los procesos de memoria y aprendizaje.¹³ Esto desencadenaría una disfunción

cognitiva irreversible y progresiva que llevaría al desarrollo del Alzheimer. No obstante, hasta la actualidad, la etiología de esta enfermedad es incierta, por lo que no se puede afirmar de manera conclusiva que este factor sería determinante en el AD.⁹

1.2.2 Hipótesis de la cascada amiloide

La hipótesis de la cascada amiloide, propuesta por Hardy y Allysop hace más de 25 años, es una de las teorías más aceptadas por la comunidad científica que explica la etiología de la enfermedad del Alzheimer, a partir de la información genética e histopatológica.¹⁸ Esta hipótesis sugiere que la agregación del péptido A β en forma de placas promovería una cascada de eventos patológicos como la hiperfosforilación de la proteína tau, la interrupción del transporte dendrítico y axonal, la activación de células microgliales y astrocitos, la neuroinflamación, la dishomeostasis de iones metálicos y la generación de estrés oxidativo (**Figura 3**).^{13,19} Todos estos procesos terminan desencadenando una neurodegeneración, muerte neuronal y deterioro cognitivo, los cuales son característicos en el AD.

La agregación y deposición extracelular de placas A β en los vasos sanguíneos del cerebro origina una condición clínica denominada angiopatía amiloide cerebral (CAA) que ocasiona microinfartos debido a la deficiencia de oxígeno y nutrientes que llegan al sistema nervioso central (SNC). Asimismo, la CAA impide la eliminación de metabolitos secundarios por el plasma sanguíneo, lo cual activa a las células microgliales, encargadas de la fagocitosis de las neuronas dañadas y de promover una respuesta inflamatoria^{5,19}. Las microglías liberan citoquinas hacia la barrera hematoencefálica (BBB) para la activación de astrocitos. Estas células gliales expresan proteínas que cumplen la función de eliminar las placas amiloides.^{19,20} No obstante, una activación prolongada de las microglías y los astrocitos originan procesos neuroinflamatorios descontrolados que terminan dañando las células y el tejido neuronal.²⁰

Asimismo, las placas A β promoverían la hiperfosforilación de la proteína tau y la formación de NFTs en las dendritas, bloqueando de esta forma los procesos de sinapsis y transporte de nutrientes, causando la muerte neuronal.^{10,21} Por último, la proteína α -sinucleína (α -SN), que es abundante en el cerebro e interactúa con las vesículas sinápticas en los terminales presinápticos, en condiciones de estrés oxidativo induciría la fosforilación de tau por la activación de algunas quinasas, como la GSK-3 β .²²

Todos estos eventos, originados a partir de la agregación de los péptidos A β , constituyen la hipótesis de la cascada amiloide. Los biomarcadores que presenta esta teoría han tenido una gran influencia en el desarrollo de nuevos tratamientos y métodos de diagnóstico para la enfermedad del Alzheimer. En ese sentido, en la siguiente sección se estudiará una técnica de diagnóstico muy empleada en medicina que permitiría la detección de las placas A β , a partir del empleo de radiofármacos marcados con isótopos como el ^{11}C , ^{18}F o ^{64}Cu .⁹

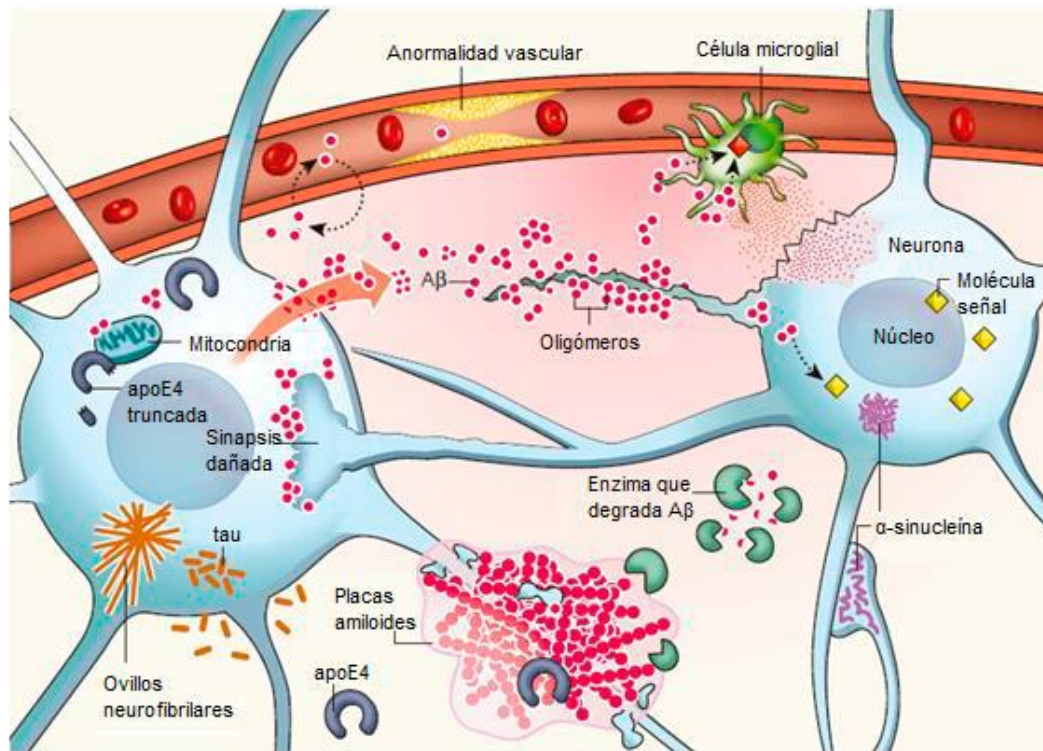


Figura 3: Representación esquemática de la hipótesis de la cascada amiloide (Adaptado de 5).

1.3 Diagnóstico basado en tomografía de emisión de positrones (PET)

En la actualidad, el diagnóstico de cualquier forma de demencia, incluido el Alzheimer, está basado en la historia clínica, exámenes de laboratorio, evaluaciones neurológicas y psiquiátricas. Toda esta información es útil para poder conocer si hay una disminución en la actividad cognitiva del paciente y, de esta manera, determinar el grado y el tipo de demencia que padece. Sin embargo, esta forma de diagnóstico no es 100% certera y reproducible. La única manera de confirmar que un individuo presenta AD es a través de una biopsia del cerebro *postmortem*.^{6,10} De hecho, estudios basados en autopsias de individuos que habían sido diagnosticados con Alzheimer revelaron que entre el 15-30% padecían de otra de forma de

demencia.²³ Por ello, es necesario el desarrollo de nuevas metodologías que permitan un diagnóstico temprano, no invasivo y certero.⁹

La tomografía de emisión de positrones (PET) es una técnica de radioimagen no invasiva que emplea moléculas pequeñas, marcadas con radioisótopos en muy bajas concentraciones, para la obtención de imágenes de órganos o tejidos (**Figura 4**). Estos radiofármacos se administran al paciente de manera oral o intravenosa; de esta forma, debido a las propiedades químicas de sus ligandos, la molécula interactúa específicamente con el tejido u órgano que se quiere visualizar. Luego, el radionúcleo se desintegra en núcleos hijos y emite positrones (β^+), los cuales se anihilan con los electrones del medio para producir dos rayos gamma en direcciones opuestas que serán detectados y amplificados por los sensores del equipo. De esta forma, es posible recrear una imagen tridimensional que podrá ser interpretada para el diagnóstico de la enfermedad.²⁴

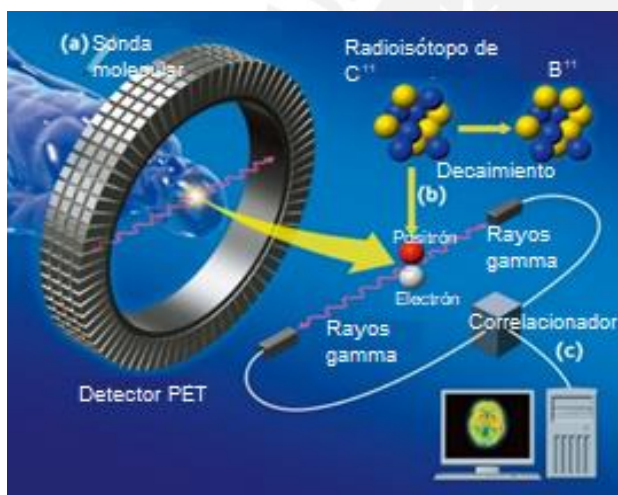


Figura 4: Funcionamiento de la Tomografía de Emisión de Positrones (PET) (Adaptado de 25).

El desarrollo de esta técnica y de radiofármacos que se asocien selectivamente a los biomarcadores abre un campo de nuevas metodologías de diagnóstico para distintas enfermedades, entre ellas el Alzheimer.

1.3.1 Agentes de diagnóstico basados en ^{11}C y ^{18}F

En las últimas décadas, se ha sintetizado una gran variedad de radiofármacos de ^{11}C y ^{18}F afines a las placas amiloides β , con el fin de poder hacer un diagnóstico del Alzheimer por una imagen PET (**Figura 5**). La mayoría de estas moléculas que han presentado una alta afinidad por estos biomarcadores son derivados de benzotiazoles y estilbenos. Estas estructuras se caracterizan por tener anillos aromáticos rígidos, con dobles enlaces conjugados y grupos donadores de electrones (hidroxilos y aminas), lo cual les permite interactuar con los bolsillos hidrofóbicos de las placas $\text{A}\beta$ a través de apilamientos- π e interacciones hidrofóbicas^{26,27}.

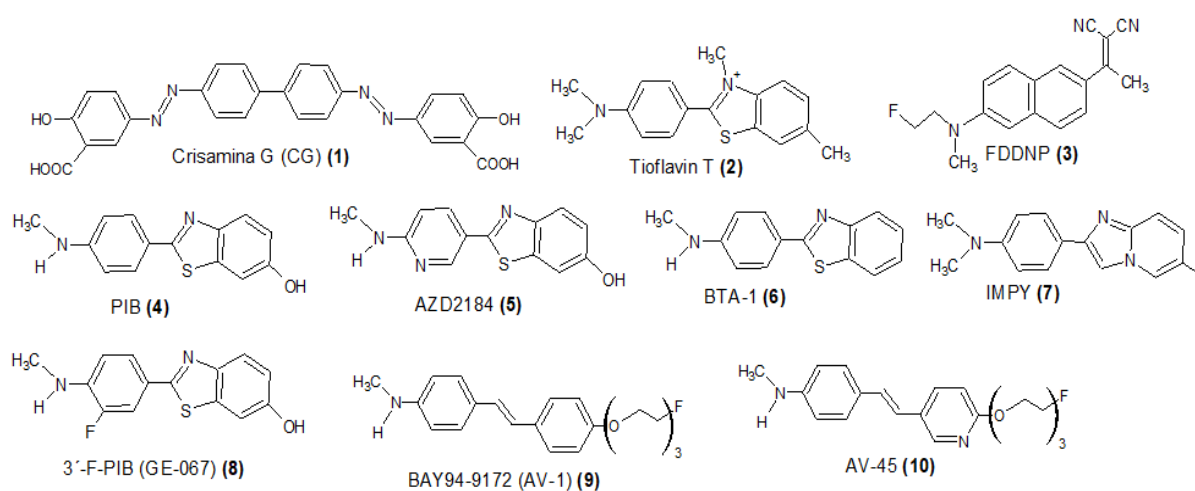


Figura 5: Estructuras de moléculas estudiadas por su afinidad a las placas $\text{A}\beta$ en cerebros de pacientes con *AD postmortem*.

En la Tabla 1, se muestran las constantes de inhibición (K_i) de los compuestos (1)-(10) obtenidas a partir de ensayos *in vitro* en cerebros con Alzheimer.^{26,27} Estas constantes indican la concentración mínima necesaria para que las moléculas interactúen selectivamente con las placas amiloides. De esta tabla, se puede observar que los compuestos derivados de estilbenos y benzotiazoles (4)-(10) presentan un menor K_i , en comparación con la Crisamina G (1) y la FDDNP (3), lo cual indica que estas estructuras tendrían una mayor afinidad por las placas $\text{A}\beta$. Por otro lado, la Tioflavina T (2), a pesar de ser un derivado del benzotiazol, tiene un alto K_i que podría atribuirse a la carga positiva en el nitrógeno de la amina, pues esto reduciría su afinidad con los residuos lipofílicos de la proteína $\text{A}\beta$.⁹

Tabla 1: Constantes de inhibición (K_i) de varios compuestos determinadas en placas A β en cerebros de pacientes con AD *postmortem* (Adaptado de 26)

Compuesto	K_i (nM)	Compuesto	K_i (nM)
Crisamina G (CG) (1)	>1000	^{11}C -BTA-1 (6)	1.28 ± 0.46
^{11}C -Tioflavina T (2)	>1000	^{123}I -IMPY (7)	1.29 ± 0.46
^{18}F -FDDNP (3)	172 ± 18	^{18}F -GE-067 (3'-F-PIB) (8)	0.74 ± 0.38
^{11}C -PIB (4)	0.87 ± 0.18	^{18}F -BAY 94-9172 (AV-1) (9)	2.22 ± 0.54
^{11}C -AZD2184 (5)	1.70 ± 0.54	^{18}F -AV-45 (10)	2.87 ± 0.17

Los radiofármacos de ^{11}C y ^{18}F han mostrado una alta afinidad por las placas A β *in vitro* (Tabla 1). Asimismo, se han realizado estudios *in vivo* en pacientes con Alzheimer y se ha observado una gran retención de las moléculas marcadas en regiones cerebrales específicas, típicamente asociadas a la corteza prefrontal y a las áreas del precúneo y cinguladas (Figuras 6 y 7).²⁸

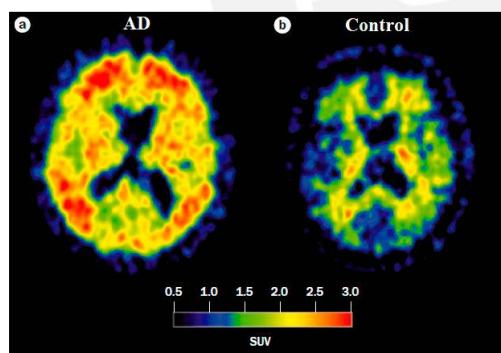


Figura 6: Vista axial del cerebro de un paciente con Alzheimer (izquierdo) y de un control sano (derecho) tomada usando ^{11}C -PIB PET para cuantificar el contenido de placas A β . La escala de colores indica con rojo una mayor retención de ^{11}C -PIB y con negro o azul oscuro una menor retención de ^{11}C -PIB.²⁹

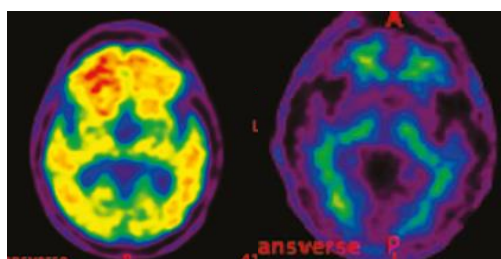


Figura 7: Vista axial del cerebro de un paciente con AD (izquierda) y de un control sano (derecha) tomada usando ^{18}F -AV-1 PET.³⁰

El radiofármaco de ^{11}C -PIB (4), conocido como compuesto B de Pittsburgh, es un derivado del benzotiazol y ha sido una de las moléculas más estudiadas para el diagnóstico de Alzheimer por PET debido a su gran afinidad por las placas A β ($K_i = 0.87 \pm 0.18$ nM). Un estudio realizado

con este radiofármaco a 10 pacientes que presentaban AD reveló una excelente correlación ($r = 0.85$) entre los resultados por PET y las autopsias de los cerebros.²⁸

Por otro lado, el compuesto [¹⁸F]florbetaben (Neuraceq) (**9**) es un estilbeno que tiene una cadena lipofílica de polietilenglicol (PEG) en la posición 4 del anillo aromático.³¹ Este radiofármaco ha demostrado tener una buena interacción con las placas A β ($K_i = 2.22 \pm 0.54$ nM), comparable con el ¹¹C-PIB. Asimismo, se ha observado en estudios *in vivo* en ratones que el [¹⁸F]-AV-1 atraviesa eficientemente la BBB, presenta una alta asimilación (8.14 ± 2.03 % dosis/g de cerebro en 2 minutos) y rápida eliminación ($1.2-2.6$ % dosis/g de cerebro luego de 60 minutos).³² Por ello, actualmente, es uno de los radiofármacos marcados con ¹⁸F que han sido aprobados por la FDA, junto con el [¹⁸F]flutemetamol (Vizamyl) (**8**) y el [¹⁸F]florbetapir (Amyvid) (**10**).³³

1.3.2 Agentes de diagnóstico basados en metales

A pesar de la alta afinidad que presentan los radiofármacos de ¹¹C y ¹⁸F, sus radioisótopos tienen un tiempo de vida media muy corto ($t_{1/2} = 20$ min y 109.7 min, respectivamente), lo cual limita su uso a centros médicos que cuenten con ciclotrones *in situ* y tengan el personal especializado en radioquímica. A esto se le suma los procedimientos elaborados de purificación, luego de la incorporación covalente de los radioisótopos de ¹¹C y ¹⁸F a la molécula orgánica.²⁷

Por esta razón, surge la idea de emplear radioisótopos metálicos, los cuales muestran un tiempo de vida media significativamente mayor al ¹¹C y ¹⁸F y, además, pueden incorporarse de forma sencilla, rápida y con rendimientos superiores al 90%. Experimentalmente, la formación del complejo metálico se hace a partir de kits, los cuales contienen la sal del radioisótopo metálico, el ligando orgánico y, en ocasiones, agentes reductores.³⁴

Los diseños de los radiofármacos metálicos que se encuentran en estudio para el diagnóstico por imágenes del AD se muestran en la **Figura 8**. Los complejos tipo A están conformados por un radioisótopo metálico unido, a través de un grupo conector, al ligando biológicamente activo afín por las placas A β . Este conector suele tener longitud y grupos funcionales variables como aminoácidos simples, cadenas alifáticas o pequeños heterociclos que no deberían de interferir en la farmacocinética ni en la interacción entre el radiofármaco y las placas amiloides. Por otro

lado, en los complejos tipo B el ligando selectivo al biomarcador forma parte de la esfera de coordinación del metal. Por ello, a estos ligandos se le conoce como agentes quelatos bifuncionales (BFCA).^{1,34}

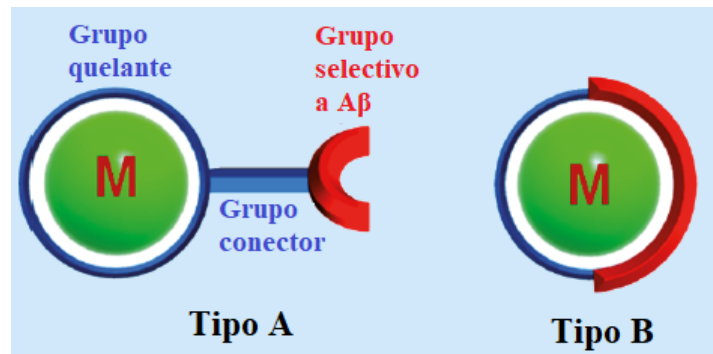


Figura 8: Representación esquemática de los dos tipos de complejos metálicos empleados para el diagnóstico de Alzheimer (M=metal) (Adaptado de 1).

Las características esenciales que se desean cuando se diseñan y sintetizan radiofármacos metálicos para el diagnóstico de AD son las siguientes: tiempo de vida media moderado del radioisótopo, estabilidad termodinámica y cinética a pH fisiológico, permeabilidad a través de la BBB, selectividad por las placas A β , baja toxicidad, alta asimilación y rápida eliminación en el cerebro.^{1,27,34}

Los radiofármacos introducidos al paciente están en una concentración del rango nanomolar. Sin embargo, es ideal que los radioisótopos tengan un tiempo de vida media adecuado, de tal forma que la radioactividad a la que el individuo esté expuesto no sea por un periodo muy prolongado de tiempo.³⁴

La estabilidad termodinámica y cinética a pH 7.4 (fisiológico) del radiofármaco metálico va a depender del complejamiento efectivo entre el ligando BFCA y el ion metálico. Esto varía de acuerdo con la naturaleza y el estado de oxidación del metal, el número de coordinación del complejo y la naturaleza del ligando. Adicionalmente, el ligando BFCA provee estabilidad redox al metal; es decir, evita que el centro metálico se reduzca u oxide, lo cual podría ocasionar la liberación del radioisótopo en el cuerpo. Esto sería perjudicial para el paciente, ya que el metal emitiría radiación innecesaria y oxidaría o reduciría cualquier órgano o tejido.³⁴

Asimismo, al igual que los radiofármacos de ^{11}C y ^{18}F , los radiofármacos metálicos deben de poder difundirse de manera pasiva por la BBB. En ese sentido, lo ideal es que sean neutros, presenten un bajo peso molecular y un $\log P = 0.1-3.5$.^{17,27,31} donde P representa el coeficiente de partición entre una fase lipofílica (octanol) y una fase hidrofílica (agua).^{26,35} Si el $\log P$ es mayor que cero, entonces el compuesto será más lipofílico y tendrá una mayor facilidad para atravesar la BBB, pero será menos soluble en la sangre. En cambio, si es menor que cero, entonces presentará una mayor dificultad para pasar por la BBB. En ese sentido, un fármaco óptimo será aquel con un $\log P$ intermedio capaz de cruzar la BBB y transportarse adecuadamente por la sangre.^{9,35} Por último, la selectividad de los complejos por las placas A β va a estar modulada por los ligandos derivados de estilbenos o benzotiazoles unidos a través de conectores o formando parte de la esfera de coordinación del radioisótopo metálico.³⁰

1.3.2.1 Complejos de ^{64}Cu en exploración

Los radiofármacos basados en el radioisótopo de ^{64}Cu han sido bastante estudiados por PET debido a su alto tiempo de vida media ($t_{1/2} = 12.7$ h) y su buena calidad de imágenes, comparables a la de los compuestos de ^{18}F . Su estado de oxidación más frecuente es el Cu(II), debido a que está favorecido por el efecto Jahn-Teller al tener una configuración electrónica d^9 . Asimismo, el cobre tiende a coordinarse por ligandos con átomos donadores blandos como las fosfinas o tiolatos, aunque también puede enlazarse a ligandos con átomos donadores duros como el oxígeno o el nitrógeno.^{9,36}

En el 2010, Donnelly y colaboradores reportaron un complejo de $^{64}\text{Cu(II)}$ con un ligando bis(tiosemicarbazona) (astm) unido a un trans-estilbeno afín a las placas A β ($^{64}\text{Cu}^{\text{II}}(\text{astm})$, **Figura 9**). Este radiofármaco mostró una gran selectividad *in vitro* por las fibrillas A β 42 de humanos y una alta asimilación *in vivo* en ratones transgénicos con APP/PS1 luego de 7 min de la administración, en comparación con los controles sanos ($2.5 \% \pm 0.6$ vs $1.7\% \pm 0.6$, %ID/g, respectivamente).³⁷ No obstante, el complejamiento con el ^{64}Cu resultó difícil y, además, el enlace tiocarbhidrazona era susceptible a hidrólisis.²⁷

Para compensar esta deficiencia, se sintetizaron otros complejos análogos con ligandos híbridos tiosemicarbazona-piridilhidrazina ($\text{Cu}^{\text{II}}\text{L}_2$ y $\text{Cu}^{\text{II}}\text{L}_3$, **Figura 9**). Ambos complejos mostraron ser redox inertes por voltametría cíclica, estables a pH fisiológico ($K_D = 5.8 \times 10^{-18}$

M del $\text{Cu}^{\text{II}}\text{L}_3$) y lipofílicos ($\text{LogD} = 1.90$ y 1.87 , respectivamente). Además, presentaron altos rendimientos en el marcaje con el radioisótopo de ^{64}Cu .²⁷

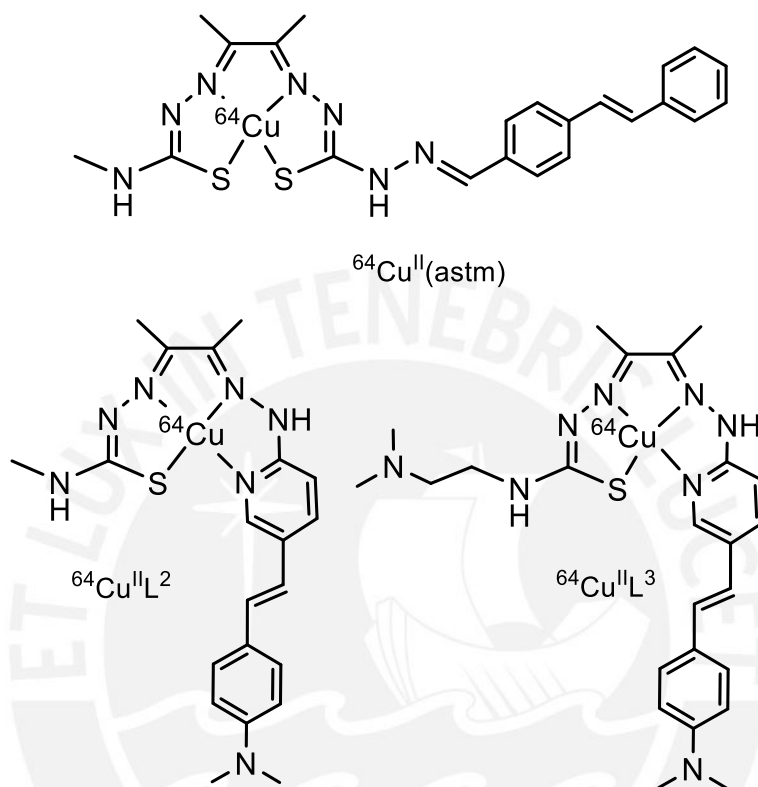


Figura 9: Estructuras químicas de los complejos de ^{64}Cu con ligandos tiosemicarbazona y tiosemicarbazona-piridilhidrazina estudiados para el diagnóstico de Alzheimer.

Estudios por microscopía epifluorescente *in vitro* de cerebros humanos con placas $\text{A}\beta$ revelaron una gran selectividad de los complejos por estos biomarcadores. Por último, estudios por PET *in vivo* en ratones demostraron una baja asimilación en el cerebro para el complejo $\text{Cu}^{\text{II}}\text{L}_2$, pero una alta retención ($1.11\% \text{ID/g}$, luego de 5 min post-inyección) y rápida eliminación ($0.38\% \text{ID/g}$, luego de 30 min) para el complejo $\text{Cu}^{\text{II}}\text{L}_3$ (**Figura 10**). Esta diferencia en asimilación podría atribuirse al grupo N, N-dimetilaminoetil del $\text{Cu}^{\text{II}}\text{L}_3$, lo cual haría más permeable a la molécula por la BBB en comparación con el $\text{Cu}^{\text{II}}\text{L}_2$.²⁷

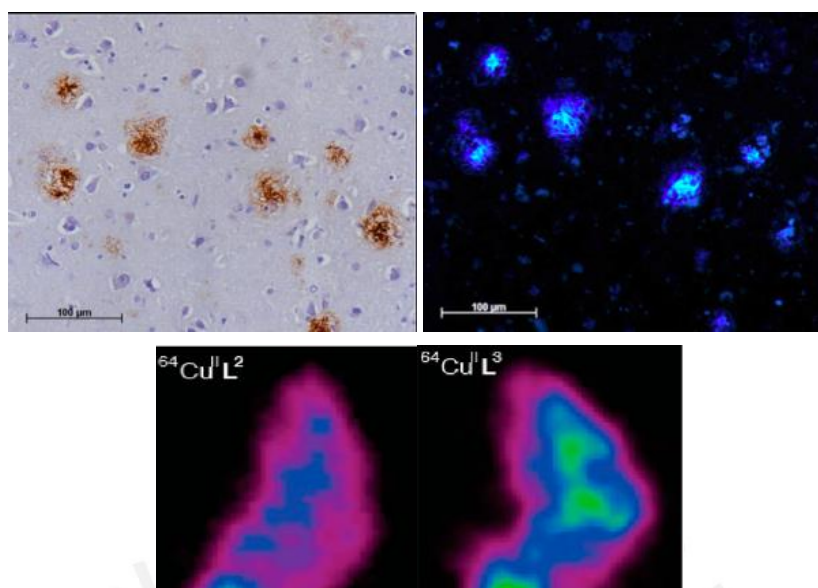


Figura 10: Imagen por microscopía óptica de la sección del cerebro con AD marcada con el anticuerpo IE8 (izquierda) e imagen por microscopía epifluorescente de las placas A β marcadas con el Cu^{II}L₂ medidas a $\lambda_{\text{ex}} = 359 \text{ nm}$ y $\lambda_{\text{em}} = 491 \text{ nm}$ (derecha). Imágenes del cerebro de ratones en presencia de los radiofármacos Cu^{II}L₂ y Cu^{II}L₃ tomadas por PET (inferior). Los colores azul y verde indican una mayor retención de compuesto (Adaptado de 27).

En el 2017, Mirica y colaboradores reportaron otro grupo de complejos de ⁶⁴Cu(II) con ligandos macrocíclicos 2,11-diaza[3,3]-(2,6)piridinofano (N4) y 1,4,7-triazaciclonoanona (tacn) unidos covalentemente a un derivado de benzotiazol, afín a las placas A β (**Figura 11**).² Todos los complejos mostraron ser redox inertes, estables termodinámicamente ($K_D = 10^{-27}$ - 10^{-30}) y parcialmente lipofílicos ($\log P = 0.64$ - 0.97), con excepción del complejo L₀-Cu que no tenía el ligando benzotiazol ($\log P = -1.09 \pm 0.16$), lo cual indica que los radiofármacos con los ligandos L₁-L₅ podrían atravesar la BBB.³⁸

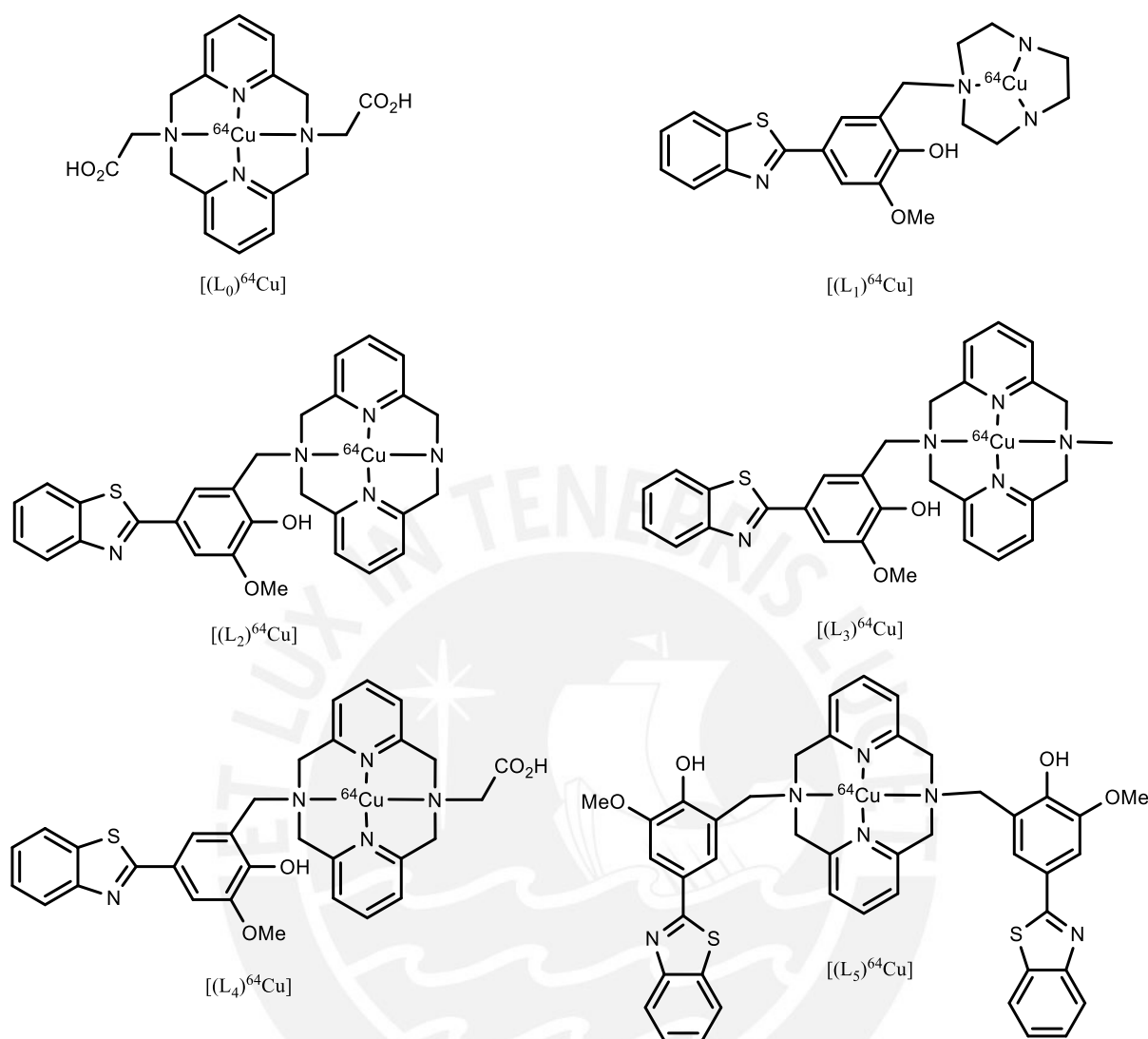


Figura 11: Estructuras químicas de los complejos de ^{64}Cu con ligandos tacn ($(L_1)^{64}\text{Cu}$) y N_4 ($(L_0-L_5)^{64}\text{Cu}$) unidos al ligando 2-fenilbenzotiazol estudiados por su afinidad con las placas $A\beta$.

Los estudios de competición de afinidad por las fibrillas $A\beta_{40}$ *in vitro*, entre los complejos de Cu(II) y el ligando fluorescente ThT, revelaron que las menores constantes de inhibición fueron de los radiofármacos $L_2\text{-Cu}$, $L_3\text{-Cu}$ y $L_5\text{-Cu}$ ($K_i = 275 \pm 20$, 325 ± 25 y 142 ± 55 nM, respectivamente). En cambio, los complejos $L_1\text{-Cu}$ y $L_4\text{-Cu}$ tuvieron una menor afinidad por las placas $A\beta$ ($K_i = 765 \pm 30$ y 2350 ± 250 nM). Esto se debe a que los ligandos N_4 tendrían una mejor interacción π con los bolsillos $A\beta$ por sus anillos piridina, en comparación con el ligando tacn no aromático del $L_1\text{-Cu}$. Asimismo, en el caso del $L_4\text{-Cu}$, el cambio de carga en la molécula debido a la desprotonación del ácido carboxílico disminuiría la probabilidad de unión con las fibras hidrofóbicas.³⁸

Además, estudios *ex vivo* en secciones de cerebro de ratones transgénicos Tg2576 APP y ratones sanos (WT) demostraron una gran afinidad y selectividad de los complejos L₁-Cu, L₂-Cu, L₄-Cu y L₅-Cu por las placas A β (**Figura 12**). También, se hizo el ensayo en presencia de un competidor B1 (2-fenilbenzotiazol); de esta forma, se observó una disminución en la intensidad de la señal de los 5 radiofármacos debido a que muchos de los bolsillos hidrofóbicos estaban interactuando con B1. Por último, estudios *in vivo* en ratones sanos mostraron una alta asimilación en el cerebro ($1.33 \pm 0.27\%$ ID/g a los 2 min) y rápida eliminación ($0.27 \pm 0.03\%$ ID/g a los 60 min) del complejo L₂-Cu. De igual forma, L₄-Cu y L₅-Cu presentaron valores de asimilación y eliminación aceptables, comparables con los reportados por Donnelly.³⁸

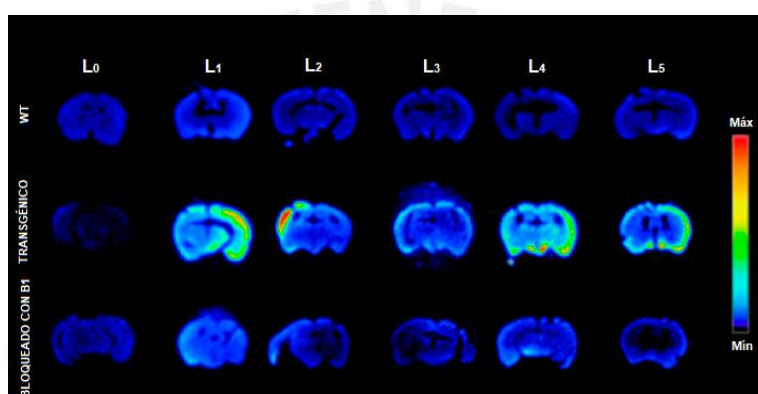


Figura 12: Imágenes por PET de secciones del cerebro de ratones WT y transgénicos (Tg2576) en presencia de los complejos de ⁶⁴Cu(II) y del agente competidor B1. La escala de colores indica con rojo una mayor retención del compuesto (Adaptado de 38).

De esta forma, se confirma que los compuestos de ⁶⁴Cu sintetizados por Donnelly (**Figura 10**) y Mirica (**Figura 12**) presentan ciertas características óptimas para la detección de placas A β por PET. Sin embargo, aún existen ciertos desafíos asociados a la afinidad por las fibras A β , la toxicidad *in vivo* y al poco conocimiento que se tiene de la farmacocinética y farmacodinámica de estos compuestos en estudio.^{27,36,38} En ese sentido, y para continuar con la exploración del comportamiento de estos compuestos metálicos se propone en el siguiente acápite el diseño de nuevos complejos de Cu(II) como posibles agentes de radiodiagnóstico PET del Alzheimer.

1.4 Diseño de complejos de Cu(II) como potenciales agentes de radiodiagnóstico PET del Alzheimer

En el acápite anterior se describieron los complejos de $^{64}\text{Cu(II)}$ con ligandos derivados de estilbenos y benzotiazoles reportados por Donelly y Mirica. Estos compuestos demostraron ser estables, tener una rápida y alta asimilación y posterior eliminación, además de tener una adecuada permeabilidad a través de la BBB, pero sobre todo, mostraron una adecuada afinidad y selectividad por las placas $\text{A}\beta$ en ensayos *in vitro* e *in vivo*.^{27,36,38} Estos resultados indican que los complejos de cobre con ligandos afines a las placas amiloides tienen un potencial como radiofármacos que aún es necesario explorar para lograr mejores resultados, especialmente en términos de su afinidad y selectividad por las placas $\text{A}\beta$.

En ese sentido, el presente trabajo propone la síntesis y caracterización de nuevos complejos de cobre que puedan ser considerados en el estudio por su potencial como radiofármacos en el diagnóstico del Alzheimer por PET. Estos complejos se muestran en la **Figura 13**.

Para el diseño de estos complejos de Cu(II) se propone que los ligandos sean derivados de estilbenos, de tal forma que estos puedan interactuar selectivamente con los bolsillos de las placas $\text{A}\beta$, mediante apilamientos- π e interacciones hidrofóbicas. Asimismo, se propone derivatizar los anillos aromáticos del estilbeno con grupos donadores de electrones que posibiliten una mejor interacción hidrofóbica con los residuos de la proteína amiloide.^{26,39} Al mismo tiempo, la introducción de distintos sustituyentes en el anillo conduciría a una variación en la afinidad y selectividad por las placas $\text{A}\beta$ y las propiedades fisicoquímicas del complejo, como su solubilidad, estabilidad y permeabilidad a través de la BBB. De esta manera, se podría determinar una relación estructura-actividad y modular los distintos grupos funcionales para sintetizar radiofármacos con una mejor actividad biológica.

Por otro lado, se sugiere emplear el ion metálico ^{64}Cu , ya que es uno de los radioisótopos más estudiados para el diagnóstico de Alzheimer por PET debido a su alto tiempo de vida media ($t_{1/2} = 12.7$ h), su rápida producción a partir de ^{64}Ni en un ciclotrón y su buena calidad de imágenes, comparables a los radiofármacos de ^{18}F .^{25,36} A esto se le suma su alta estabilidad termodinámica y cinética, especialmente en complejos de Cu(II) con ligandos polidentados que

presenten átomos donadores duros como las bases de Schiff que posibilitan la formación de complejos de manera rápida, sencilla y con altos rendimientos.

Las bases de Schiff, grupo funcional presente en los ligandos propuestos, forman complejos bastante estables con diversos metales, especialmente aquellos con estado de oxidación +2. Asimismo, como ligandos, han sido empleados en una gran variedad de compuestos con actividad antibacteriana, antifúngica, antimicrobiana, anticancerígena, antioxidante y antiinflamatoria, entre otras.⁴⁰ Incluso, Donnelly en el 2016 reportó un radiofármaco de ⁶⁸Ga(III) octaédrico con un ligando tipo base de Schiff N₂O₂ y una curcumina β-dicetona con afinidad por las placas Aβ en estudios *in vitro*.⁴¹ A pesar de ello, este grupo funcional no ha sido reportado con el Cu(II) para esta aplicación en particular, por lo que se convierte en una oportunidad para explorar su actividad en este rol.

Por ello, tomando en cuenta toda la información expuesta en esta sección, en el presente trabajo se propuso la síntesis y caracterización de tres nuevos complejos de Cu(II) con ligandos tipo base de Schiff que incorporan grupos estilbenos derivatizados en los anillos aromáticos como posibles agentes de radiodiagnóstico PET del Alzheimer (**Figura 13**). Estos complejos fueron preparados y caracterizados usando el isótopo de cobre más común, el Cu-63, por ser este el comercialmente disponible y más seguro de manipular. De esta forma, será posible explorar y optimizar la preparación de los complejos para posteriormente estudiar sus propiedades biológicas, fisicoquímicas y farmacológicas, que permitirán en un futuro, idealmente, alcanzar un precandidato a radiofármaco con el uso del correspondiente radioisótopo de ⁶⁴Cu.

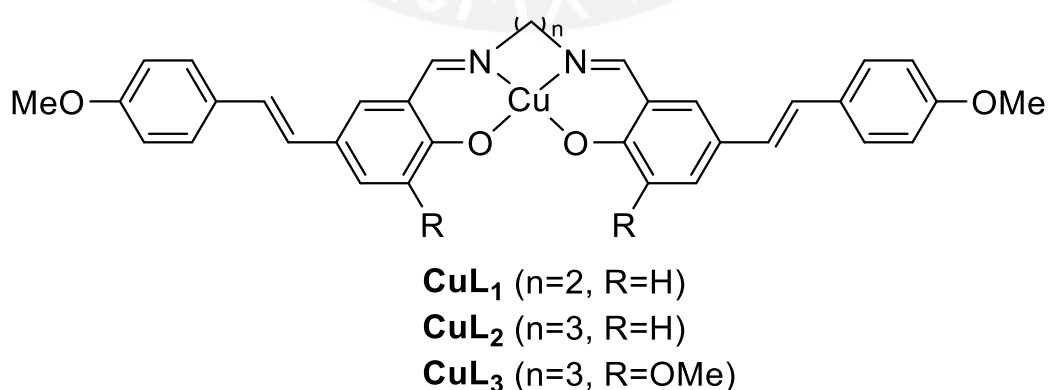


Figura 13: Estructura química de tres complejos de Cu(II) propuestos en este trabajo de investigación

2. OBJETIVOS

2.1 Objetivo general

Diseñar, sintetizar y caracterizar tres compuestos de coordinación de cobre (II) con ligandos del tipo base de Schiff derivados de estilbena, afines a las placas amiloides β , de interés como agentes de radiodiagnóstico para la enfermedad del Alzheimer.

2.2 Objetivos específicos

- Sintetizar tres moléculas orgánicas del tipo base de Schiff derivados de estilbena, capaces de actuar como ligandos polidentados.
- Caracterizar los ligandos mediante espectroscopías FT-IR, RMN (^1H , ^{13}C , COSY, ^1H - ^{13}C HSQC) y HRMS.
- Sintetizar y caracterizar los tres compuestos de coordinación de cobre (II) mediante FT-IR, HRMS, espectroscopía ultravioleta-visible y XRD.

3. DISEÑO DE SÍNTESIS DE CuL_1 , CuL_2 y CuL_3

Los complejos CuL_{1-3} no han sido sintetizados anteriormente por lo que se propone una ruta de síntesis para su obtención, la que se muestra como un análisis retrosintético en la **Figura 14**. De esta forma, los ligandos tipo base de Schiff podrían provenir de la condensación entre una diamina y los grupos aldehídos de dos estilbenos. A su vez, estos dos estilbenos pueden ser sintetizados a partir de compuestos más sencillos como bromuros de arilo y un estireno, el cual se generaría por la deshidratación de un alcohol secundario.

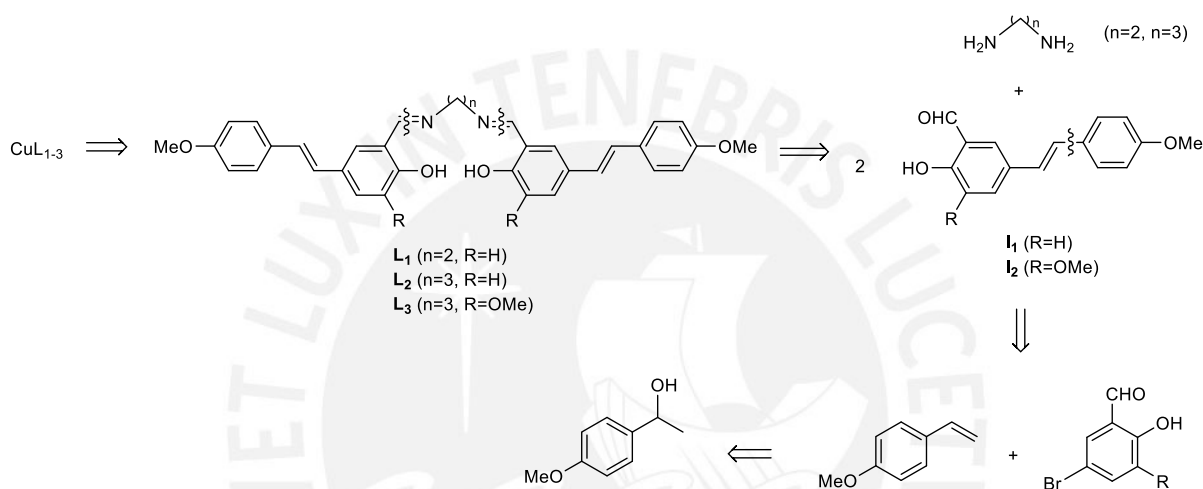


Figura 14: Análisis retrosintético de los complejos CuL_1 , CuL_2 y CuL_3

En ese sentido, la síntesis de los complejos CuL_{1-3} se llevará a cabo en tres etapas: 1) la formación del estilbeno por el acoplamiento entre el estireno y el bromuro de arilo (I_1 y I_2); 2) la condensación de dos estilbenos con la etilendiamina para la formación del primer ligando (L_1) y con la 1,3-diaminopropano para obtención del segundo y tercer ligando (L_2 y L_3); y 3) la formación de los complejos de cobre (II) CuL_{1-3} .

Asimismo, se exploró una ruta alternativa para la síntesis de estos mismos complejos empleando una reacción sucesiva (*one-pot*), en la cual se parte del estilbeno intermediario y se hace reaccionar con la diamina para formar los ligandos *in situ*, que complejarán con los iones de Cu(II) para la obtención de CuL_{1-3} .

3.1 Etapa 1

En esta primera etapa, se sintetizarán las moléculas precursoras de los ligandos derivados del estilbena (**I**₁ y **I**₂), según el método adaptado de P. Colbon y colaboradores (**Figura 15**).⁴² Este consiste en una reacción sucesiva (*one-pot*) del acoplamiento de Heck Csp^2-Csp^2 , catalizado por Pd(0), entre el bromuro de arilo y el 1-metoxi-4-vinilbenceno, el cual se genera *in-situ* por la deshidratación selectiva del 4-metoxi- α -metilbencil alcohol catalizada por el heteropoliácido del tipo Keggin $H_3PW_{12}O_{40} \cdot xH_2O$ (PTA).

Los heteropoliácidos han demostrado ser seguros, económicos, fáciles de manejar, eco-amigables y eficientes en la deshidratación de alcoholes con alta tolerancia a diversos grupos funcionales, en comparación con los ácidos fuertes de Brønsted y algunos metales de transición.⁴³ Por ello, este método de deshidratación permite obtener olefinas *in situ* que no suelen encontrarse comercialmente disponibles y que, además, pueden reaccionar rápidamente con los bromuros de arilo.⁴⁴

Por otro lado, para el acoplamiento de Heck en *one-pot* se requiere de la base NEt_3 que neutraliza el exceso del ácido PTA, así como el subproducto HBr que se forma luego de la eliminación reductiva del complejo de Pd(II); el catalizador de Pd(0), que permite la adición oxidativa del bromuro de arilo y la inserción migratoria del fenilo al estireno para la formación del estilbena intermediario; y los ligandos fosfina que modulan la densidad electrónica y la congestión estérica en los complejos catalíticos de Pd^0/Pd^{II} .

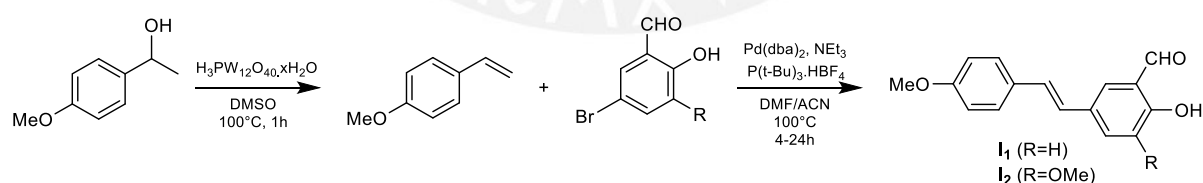


Figura 15. Reacciones de la Etapa 1 en la ruta sintética de **I**₁ y **I**₂

3.2 Etapa 2

La segunda etapa contempla la síntesis de los ligandos simétricos **L**₁₋₃ a partir de una condensación entre los grupos aldehídos de **I**₁ y **I**₂ con la etilendiamina y la 1,3-diaminopropano. Estas reacciones se realizarán siguiendo un método diseñado para esta investigación, pero inspirado en reacciones de condensación similares, como la reportada por Mukherjee y Amirnasr (**Figura 16**).^{45,46}

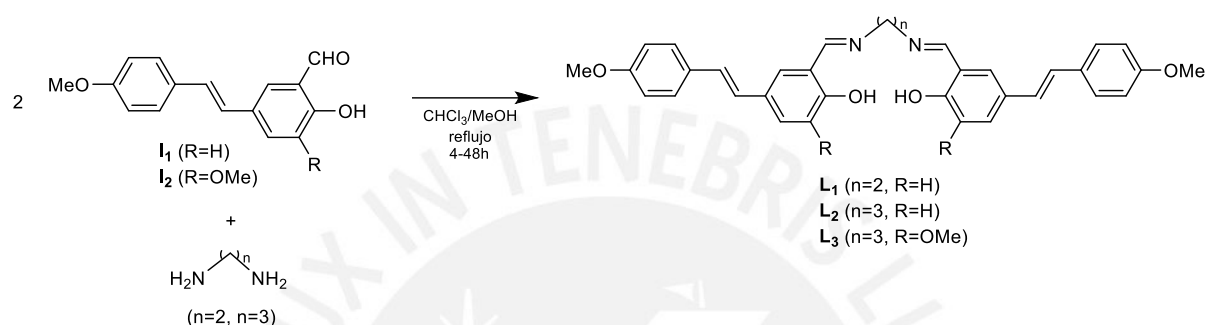


Figura 16: Reacciones de la Etapa 2 en la ruta sintética de **L**₁₋₃

Cabe resaltar que es posible sintetizar variaciones de estos ligandos, empleando otras diaminas como la 1,3-pentanodiamina y la 1,2-fenilendiamina, entre otras.^{45,47} Estos ligeros cambios impactarían en la estabilidad termodinámica y cinética del complejo, la solubilidad, la afinidad y selectividad por las placas A β , así como en la permeabilidad por la BBB. De esta forma, se podrían establecer una relación estructura-actividad y modular las distintas diaminas para sintetizar complejos con una mayor actividad farmacológica.

3.3 Etapa 3

Finalmente, la tercera etapa consistirá en la formación de los complejos **CuL**₁₋₃ a partir de los ligandos **L**₁₋₃ y la sal de acetato de cobre (II) en reflujo de etanol, siguiendo el método diseñado para esta propuesta, pero inspirado en la formación de otros complejos como los de Borisov, Nathan y colaboradores (**Figura 17**).^{48,49} Esta reacción de complejamiento del ion Cu(II) se verá favorecida, principalmente, por el efecto quelato de los ligandos tetradentados del tipo base Schiff N₂O₂.

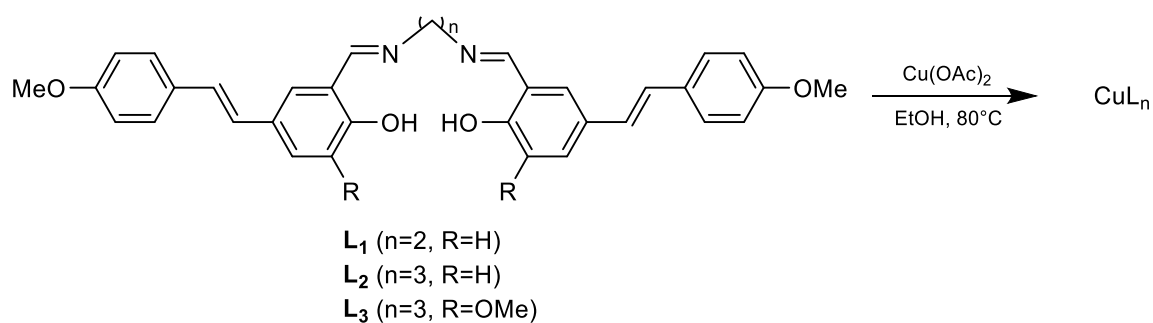
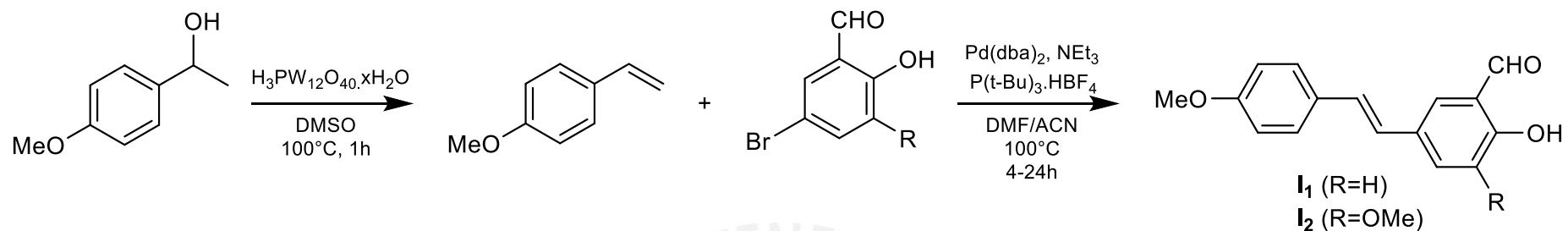


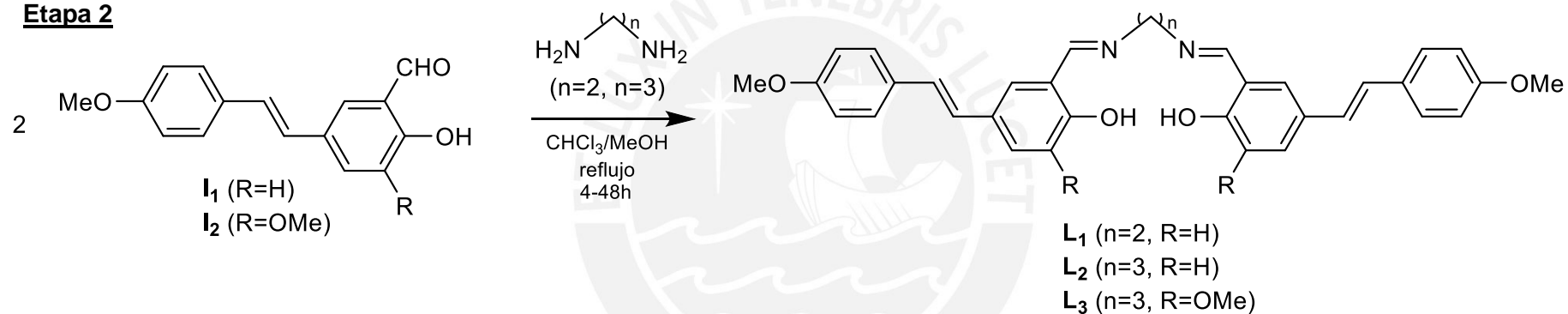
Figura 17: Reacciones de la Etapa 3 en la ruta sintética de **CuL₁₋₃**

En la **Figura 18** se muestra la ruta sintética completa para la obtención de los complejos **CuL₁₋₃**. Esta ruta consiste en cuatro reacciones, de las cuales solo la primera cuenta con antecedentes en la literatura. En todas las reacciones se han empleado procedimientos de síntesis de compuestos análogos. Además de realizar la síntesis de los complejos a partir de sus respectivos ligandos, se probará una ruta alternativa en *one-pot* o *template* que consiste en partir de los intermediarios **I₁₋₂** y adicionar la diamina y la sal de cobre (II) para formar los complejos **CuL₁₋₃**. La metodología de las reacciones realizadas se describe en el siguiente capítulo.

Etapa 1



Etapa 2



Etapa 3

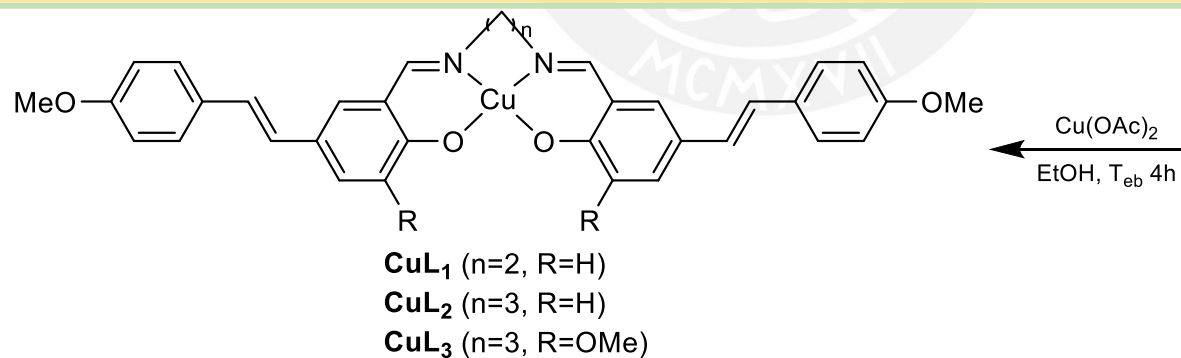


Figura 18: Ruta de síntesis de **CuL₁₋₃**

4. PARTE EXPERIMENTAL

4.1 Reactivos y materiales

Todos los solventes utilizados fueron de pureza espectroscópica. Los reactivos empleados en este trabajo fueron adquiridos de Merck. La NEt_3 y el ACN fueron destilados sobre CaH_2 y almacenados bajo atmósfera inerte y tamices moleculares de 4 Å hasta su uso. De igual forma, el DMF y el DMSO fueron almacenados sobre tamices moleculares de 4 Å. Para el monitoreo de las reacciones y el análisis de los compuestos sintetizados se empleó cromatografía de capa delgada (CCD) (sílica gel 60 F₂₅₄).

4.2 Equipos

La mayoría de los equipos que fueron empleados en este trabajo de investigación se encuentran en el Laboratorio de Análisis Instrumental de la Sección de Química de la Pontificia Universidad Católica del Perú (PUCP). El equipo de Resonancia Magnética Nuclear pertenece al Centro de Espectroscopía de Resonancia Magnética Nuclear (CERM-PUCP). El espectrómetro de masas de alta resolución se encuentra en el Departamento de Química de la Universidad de Saskatchewan, y el difractor de rayos X de monocristal se encuentra en el Centro de Ciencias Estructurales, también en la Universidad de Saskatchewan, en Canadá. A continuación, se detallan los equipos empleados en esta investigación:

- Espectrofotómetro de infrarrojo Perkin Elmer modelo Frontier. Para el análisis de las muestras se empleó reflectancia total atenuada (ATR) en un intervalo 4000-400 cm^{-1} y el software empleado fue Perkin Elmer Spectrum versión 10.4.
- Espectrofotómetro ultravioleta-visible (UV-vis) de haz simple Agilent 8453E.
- Espectrómetro de resonancia magnética nuclear (RMN) Bruker Ascend 500 MHz-TCI-He AVANCE III HD. Los espectros fueron procesados con el software TopSpin 3.5 pl7 de Bruker. Las muestras se disolvieron en DMSO-d_6 y CDCl_3 para ser analizadas. Los desplazamientos químicos (δ) fueron reportados en ppm y las constantes de acoplamiento (J) en Hz. La notación empleada para la multiplicidad de las señales es s: singlete; d: doblete; t: triplete; dd: doblete de dobletes; dt: doblete de tripletes; m: multiplete.
- Espectrómetro de masas de alta resolución (HRMS) JEOL AccuTOF GCv 4G con ionizador por desorción de campo (FDI).

- Difractómetro de Rayos X de monocristal Bruker APEX II CCD. La estructura cristalográfica fue resuelta utilizando el paquete de softwares Bruker SAINT y APEX2. Detalles cristalográficos adicionales se encuentran en el **Anexo XI**.

4.3 Procedimiento de síntesis

3.3.1 Síntesis del intermediario I₁

A un Schlenk de 100 mL, equipado con una barra magnética, se le agregan 50.5 mg (0.018 mmol) del H₃PW₁₂O₄₀.xH₂O. Luego, se desgasifica con nitrógeno gas tres veces y se inyectan 430 µL (3 mmol) del 4-metoxi- α -metilbencil alcohol y 3 mL de DMSO anhidro. La mezcla color amarillo se deja reaccionando por 1 hora a 100 °C. Posteriormente, se inyectan 420 µL (3.01 mmol) de NEt₃ anhidro. En otro Schlenk se pesan 23.2 mg (0.04 mmol) de Pd(dba)₂, 35.1 mg (0.12 mmol) de P(t-Bu)₃.HBF₄ y 604 mg (3 mmol) del 5-bromosalicilaldehído. Después, se purga el Schlenk con nitrógeno gas tres veces y se inyectan 5 mL de DMF anhidro. Con ayuda de una cánula se añade la mezcla del estireno del primer Schlenk al segundo Schlenk. Se deja reaccionar por 4 horas a 100 °C y con agitación constante bajo atmósfera inerte. Terminado el tiempo de reacción, se trata la mezcla con una solución de 40 mL de NaHCO₃ saturado y se extrae el producto con EtOAc (4x20 mL). Se juntan las fases orgánicas, se secan con Na₂SO₄ anhidro y se evapora el solvente a presión reducida para obtener un sólido amarillo que se recrystaliza en EtOAc. Finalmente, los cristales amarillos se filtran y lavan con hexano helado. Se eligió un sistema de solventes hexano/EtOAc (6:1) para analizar el producto obtenido por CCD. Rendimiento: 41%.

¹H-RMN (500 MHz, CDCl₃, ppm): δ 3.86 (s, 3H, OCH₃), 6.93 (d, J = 8.65 Hz, 2H, Ar-H₇), 6.94 (d, J = 16.5 Hz, 1H, =CH), 7.00 (d, J = 16.3 Hz, 1H, =CH), 7.01 (d, J = 8.60 Hz, 1H, Ar-H₄), 7.46 (d, J = 8.70 Hz, 2H, Ar-H₃), 7.65 (d, J = 2.27 Hz, 1H, Ar-H₂), 7.72 (dd, J = 8.54, 2.24 Hz, 1H, Ar-H₁), 9.95 (s, 1H, CHO), 11.00 (s, 1H, OH).

¹³C-RMN (125 MHz, CDCl₃, ppm): δ 55.35 (1C, OCH₃), 114.2 (2C, C₇-C_{Ar}), 118.0 (1C, C₄-C_{Ar}), 120.6 (1C, C_{Ar} cuaternario), 124.5 (1C, =CH), 127.6 (2C, C₃-C_{Ar}), 127.7 (1C, =CH),

129.7 (1C, C_{Ar} cuaternario), 130.1 (1C, C_{Ar} cuaternario), 131.1 (1C, C₂-C_{Ar}), 134.4 (1C, C₁-C_{Ar}), 159.4 (1C, C_{Ar} cuaternario), 160.8 (1C, C_{Ar} cuaternario), 196.6 (1C, CHO).

FT-IR (cm⁻¹): 3187 (ν_{OH}), 3019 (ν_{C-H} del alqueno aromático), 2973, 2842 (ν_{C-H} del metilo), 1660 (ν_{C=O}), 1600, 1509 (ν_{C=C}), 1248 (ν_{as C-O-C}), 1027 (ν_{s C-O-C}).

3.3.2 Síntesis del intermediario I₂

Se sigue el mismo procedimiento descrito para la síntesis de I₁, pero se pesa en el segundo Schlenk 23.0 mg (0.04 mmol) de Pd(dba)₂, 35.0 mg (0.12 mmol) de P(t-Bu)₃.HBF₄ y 737 mg (3.19 mmol) del 5-bromo-2-hidroxi-3-metoxibenzaldehído. Después, se purga el Schlenk con nitrógeno gas tres veces y se inyectan 20 mL de ACN anhidro. Con ayuda de una cánula se añade la mezcla del estireno del primer Schlenk al segundo Schlenk. Se deja reaccionar por 24 horas a reflujo con agitación constante bajo atmósfera inerte. Terminado el tiempo de reacción, se trata la mezcla con 40 mL de NaHCO₃ saturado y se extrae el producto con EtOAc (4x20 mL). Se juntan las fases orgánicas, se secan con Na₂SO₄ anhidro y se evapora el solvente a presión reducida para obtener un sólido amarillo que se recristaliza en EtOH. Finalmente, los cristales amarillos se filtran y lavan con etanol helado. Se eligió un sistema de solventes hexano/EtOAc (3:1) para analizar el producto obtenido por CCD. Rendimiento: 35%

¹H-RMN (500 MHz, CDCl₃, ppm): δ3.86 (s, 3H, OCH₃), 4.01 (s, 3H, OCH₃), 6.93 (d, J = 8.65 Hz, 2H, Ar-H₆), 6.94 (d, J = 16.28 Hz, 1H, =CH), 7.00 (d, J = 16.29 Hz, 1H, =CH), 7.27 (d, J = 1.8 Hz, 1H, Ar-H₃), 7.30 (d, J = 1.85 Hz, 1H, Ar-H₂), 7.46 (d, J = 8.71 Hz, 2H, Ar-H₁), 9.97 (s, 1H, CHO), 11.09 (s, 1H, OH).

¹³C-RMN (125 MHz, CDCl₃, ppm): δ55.36 (1C, OCH₃), 56.37 (1C, OCH₃), 114.2 (2C, C₆-C_{Ar}), 114.9 (1C, C₂-C_{Ar}), 120.6 (1C, C_{Ar} cuaternario), 122.5 (1C, C₃-C_{Ar}), 124.9 (1C, =CH), 127.6 (2C, C₁-C_{Ar}), 127.7 (1C, =CH), 129.7 (1C, C_{Ar} cuaternario), 129.9 (1C, C_{Ar} cuaternario), 148.5 (1C, C_{Ar} cuaternario), 151.0 (1C, C_{Ar} cuaternario), 159.5 (1C, C_{Ar} cuaternario), 196.6 (1C, CHO).

FT-IR (cm⁻¹): 3166 (ν_{OH}), 3018 (ν_{C-H} del alqueno aromático), 2843 (ν_{C-H} del metilo), 1661 (ν_{C=O}), 1609, 1516 (ν_{C=C}), 1253 (ν_{as C-O-C}), 1032 (ν_{s C-O-C}).

3.3.3 Síntesis del ligando L₁

En un balón de 100 mL, se pesan 100 mg (0.393 mmol) de **I**₁ y se disuelven en 30 mL de cloroformo caliente. Después, se agregan 53 μ L (0.786 mmol) de etilendiamina e inmediatamente se observa que la mezcla cambia de un color amarillo a anaranjado. Asimismo, luego de algunos minutos, se aprecia la formación de un precipitado. Se deja la reacción en reflujo por 4 horas y se monitorea por CCD con un sistema de solventes hexano/EtOAc (6:1). El producto de color amarillo-anaranjado es aislado por filtración al vacío y es lavado con 10 mL de acetato de etilo. Rendimiento: 81%.

FT-IR (cm^{-1}): 3015 ($\nu_{\text{C-H}}$ del alqueno aromático), 2957, 2839 ($\nu_{\text{C-H}}$ del metilo), 1634 ($\nu_{\text{C=N}}$), 1603, 1510 ($\nu_{\text{C=C}}$), 1245 ($\nu_{\text{as C-O-C}}$), 1176 ($\nu_{\text{C-N}}$).

FD-(+)-HRMS, (m/z, [asign]): 532.2373 [M]⁺, 266.1172 [M]⁺² ($\text{C}_{34}\text{H}_{32}\text{N}_2\text{O}_4$; PM: 532.2364 g/mol).

3.3.4 Síntesis del ligando L₂

Se sigue el mismo procedimiento descrito para la síntesis de **L**₁, pero se añaden 66 μ L (0.786 mmol) de 1,3-diaminopropano. Inmediatamente, se observa que la mezcla cambia de un color amarillo a anaranjado. Se deja la reacción en reflujo por 4 horas y se monitorea la reacción por CCD con un sistema de solventes hexano/EtOAc (6:1). El producto de color anaranjado se obtiene luego de evaporar el solvente a presión reducida. Finalmente, se lava con AcOEt y se deja secando al vacío. El producto no requirió de mayor purificación. Rendimiento: 79%.

¹H-RMN (500 MHz, CDCl_3 , ppm): δ 2.18 (m, J = 6.56 Hz, 2H, H₈), 3.77 (t, J = 6.52 Hz, 4H, H₉), 3.85 (s, 6H, OCH₃), 6.90 (d, J = 8.84 Hz, 4H, Ar-H₇), 6.94 (s, 4H, =CH), 6.99 (d, J = 8.54 Hz, 2H, Ar-H₄), 7.36 (d, J = 2.16 Hz, 2H, Ar-H₂), 7.43 (d, J = 8.80 Hz, 4H, Ar-H₃), 7.51 (dd, J = 8.65, 2.26 Hz, 2H, Ar-H₁), 8.42 (s, 2H, -HC=N).

¹³C-RMN (125 MHz, CDCl_3 , ppm): δ 31.5 (1C, C₈), 55.3 (2C, OCH₃), 56.8 (2C, C₉), 114.1 (4C, C₇-C_{Ar}), 117.5 (2C, C₄-C_{Ar}), 118.6 (2C, C_{Ar} cuaternario), 125.6 (2C, =CH), 126.3 (2C, =CH), 127.4 (1C, C₃-C_{Ar}), 128.7 (2C, C_{Ar} cuaternario), 129.2 (2C, C₂-C_{Ar}), 130.1 (2C, C₁-C_{Ar}), 130.3

(2C, C_{Ar} cuaternario), 159.1 (2C, C_{Ar} cuaternario), 160.7 (2C, C_{Ar} cuaternario), 165.5 (2C, C=N).

FT-IR (cm⁻¹): 3015 (ν_{C-H} del alqueno aromático), 2938, 2837 (ν_{C-H} del metilo), 1636 (ν_{C=N}), 1604, 1510 (ν_{C=C}), 1248 (ν_{as C-O-C}), 1176 (ν_{C-N}).

FD-(+)-HRMS, (m/z, [assign]): 547.2509 [M+H]⁺, 546.2533 [M]⁺, 273.1250 [M]⁺² (C₃₅H₃₄N₂O₄; PM: 546.2520 g/mol).

3.3.5 Síntesis del ligando L₃

Se sigue un procedimiento similar descrito para la síntesis del ligando L₂. Se pesan 100 mg (0.352 mmol) de I₂ en un balón de reacción de 100 mL y se disuelven en 50 mL de MeOH caliente. Luego, se agregan 59 μL (0.704 mmol) de 1,3-diaminopropano. Inmediatamente, se observa que la mezcla cambia de un color amarillo a anaranjado. Se deja la reacción en reflujo por 48 horas y se monitorea la reacción por CCD con un sistema de solventes hexano/EtOAc (6:1). El producto de color marrón ladrillo se obtiene por precipitación con la adición de agua a la mezcla, y luego es aislado por filtración a vacío. Finalmente, se lava con MeOH helado y se deja secando al vacío. El producto no requirió de mayor purificación. Rendimiento: 60%.

¹H-RMN (500 MHz, CDCl₃, ppm): δ2.16 (m, 2H, H₈), 3.77 (t, 4H, H₇), 3.85 (s, 6H, OCH₃), 4.00 (s, 6H, OCH₃), 6.90 (d, J = 8.82 Hz, 4H, Ar-H₆), 6.92 (s, 4H, =CH), 6.97 (d, J = 1.89 Hz, 2H, Ar-H₃), 7.12 (d, J = 1.9 Hz, 2H, Ar-H₂), 7.44 (d, J = 8.75 Hz, 4H, Ar-H₁), 8.38 (s, 2H, -HC=N).

¹³C-RMN (125 MHz, CDCl₃, ppm): δ31.5 (1C, C₈), 55.3 (2C, OCH₃), 55.7 (2C, C₇), 56.1 (2C, OCH₃), 111.1 (2C, C₃-C_{Ar}), 114.2 (4C, C₆-C_{Ar}), 118.0 (2C, C_{Ar} cuaternario), 121.5 (2C, C₂-C_{Ar}), 126.0 (2C, =CH), 126.1 (2C, =CH), 127.4 (4C, C₁-C_{Ar}), 127.9 (2C, C_{Ar} cuaternario), 130.2 (2C, C_{Ar} cuaternario), 148.9 (2C, C_{Ar} cuaternario), 152.5 (2C, C_{Ar} cuaternario), 159.1 (2C, C_{Ar} cuaternario), 165.5 (2C, C=N).

FT-IR (cm⁻¹): 3025 (ν_{C-H} del alqueno aromático), 2938, 2907, 2837 (ν_{C-H} del metilo), 1626 (ν_{C=N}), 1606, 1509 (ν_{C=C}), 1245 (ν_{as C-O-C}), 1175 (ν_{C-N}).

3.3.6 Síntesis de CuL₁

En un balón de 100 mL, se pesan 100 mg (0.188 mmol) de L₁ y se disuelven en 30 mL de etanol caliente. Luego, se agregan 31 mg (1.314 mmol) de LiOH disueltos en la mínima cantidad de metanol caliente. La adición de la base favorece a una mejor disolución del ligando. A continuación, se agrega gota a gota una solución con 38 mg de acetato de cobre (II) monohidratado (0.18 mmol) disueltos en la mínima cantidad de metanol caliente. Inmediatamente, se observa que la mezcla cambia de un color anaranjado a un color verde oscuro, además de la formación de un precipitado. Se deja la reacción bajo reflujo durante 4 horas y se monitorea la reacción por CCD con un sistema de solventes hexano/EtOAc (6:1). Finalmente, se filtra a vacío el producto color verde oscuro y se lava con etanol helado. El producto no requirió de mayor purificación. Rendimiento: 95%.

Alternativamente se puede seguir el siguiente procedimiento *one-pot*. En un balón de 100 mL, se pesan 100 mg (0.393 mmol) de I₁ y se disuelven en 30 mL de etanol caliente. Luego, se agregan 53 µL (0.786 mmol) de etilendiamina e instantáneamente se observa que la mezcla cambia de un color amarillo a anaranjado y se aprecia la formación de un precipitado. Después de 10 minutos, se añaden 57 mg (2.358 mmol) de LiOH disueltos en la mínima cantidad de metanol caliente. La adición de la base favorece a una mejor disolución del ligando. A continuación, se agrega gota a gota una solución con 39 mg de acetato de cobre (II) monohidratado (0.19 mmol) disueltos en la mínima cantidad de metanol caliente. Inmediatamente, se observa que la mezcla cambia de un color anaranjado a un color verde oscuro, además de la formación de un precipitado. Se deja la reacción bajo reflujo durante 6 horas y se monitorea la reacción por CCD con un sistema de solventes hexano/EtOAc (6:1). Finalmente, se filtra a vacío el producto color verde oscuro y se lava con etanol helado. El producto no requirió de mayor purificación. Rendimiento: 88%.

FT-IR (cm⁻¹): 3016 (ν_{C-H} del alqueno aromático), 2967, 2841 (ν_{C-H} del metilo), 1626 (ν_{C=N}), 1509 (ν_{C=C}), 1247 (ν_{as C-O-C}), 1177 (ν_{C-N}), 580.5, 522 (ν_{Cu-N}), 478, 471 (ν_{Cu-O}).

FD-(+)-HRMS, (m/z, [assign]): 593.1504 [M]⁺, 595.1500 [M_{Cu-65}]⁺, 296.5724 [M]⁺² (C₃₄H₃₀CuN₂O₄; PM: 593.1503 g/mol).

3.3.7 Síntesis de CuL₂

Se sigue el mismo procedimiento descrito para la síntesis del complejo CuL₁. Se utilizan 100 mg (0.183 mmol) de L₂ a los que se añaden 31 mg (1.28 mmol) de LiOH disueltos en la mínima cantidad de metanol caliente. A continuación, se agrega gota a gota una solución con 37 mg de acetato de cobre (II) monohidratado (0.18 mmol) disueltos en la mínima cantidad de metanol caliente. Inmediatamente, se observa que la mezcla cambia de un color anaranjado a un color verde oscuro, además de la formación de un precipitado. Se deja la reacción bajo reflujo durante 6 horas y se monitorea la reacción por CCD con un sistema de solventes hexano/EtOAc (6:1). Finalmente, se filtra a vacío el producto color verde oscuro y se lava con etanol helado. El producto no requirió de mayor purificación. Rendimiento: 86%.

Igualmente, se puede seguir un procedimiento del tipo *one-pot*. A 100 mg (0.393 mmol) de I₁ disuelto en 30 mL de etanol caliente se añaden 66 μ L (0.786 mmol) de 1,3-diaminopropano. Después de 10 minutos, se añaden 57 mg (2.358 mmol) de LiOH disueltos en la mínima cantidad de metanol caliente. A continuación, se agrega gota a gota una solución con 39 mg de acetato de cobre (II) monohidratado (0.19 mmol) disueltos en la mínima cantidad de metanol caliente. Se deja la reacción bajo reflujo durante 6 horas y se monitorea la reacción por CCD con un sistema de solventes hexano/EtOAc (6:1). Finalmente, se filtra a vacío el producto color verde oscuro y se lava con etanol helado. El producto no requirió de mayor purificación. Rendimiento: 80%.

FT-IR (cm⁻¹): 3018 (ν_{C-H} del alqueno aromático), 2934, 2837 (ν_{C-H} del metilo), 1614 ($\nu_{C=N}$), 1509 ($\nu_{C=C}$), 1249 ($\nu_{as C-O-C}$), 1175 (ν_{C-N}), 586, 531 (ν_{Cu-N}), 455, 423 (ν_{Cu-O}).

FD-(+)-HRMS, (m/z, [assign]): 607.1672 [M]⁺, 609.1666 [M_{Cu-65}]⁺, 303.5762 [M]⁺² (C₃₅H₃₂CuN₂O₄; PM: 607.1660 g/mol).

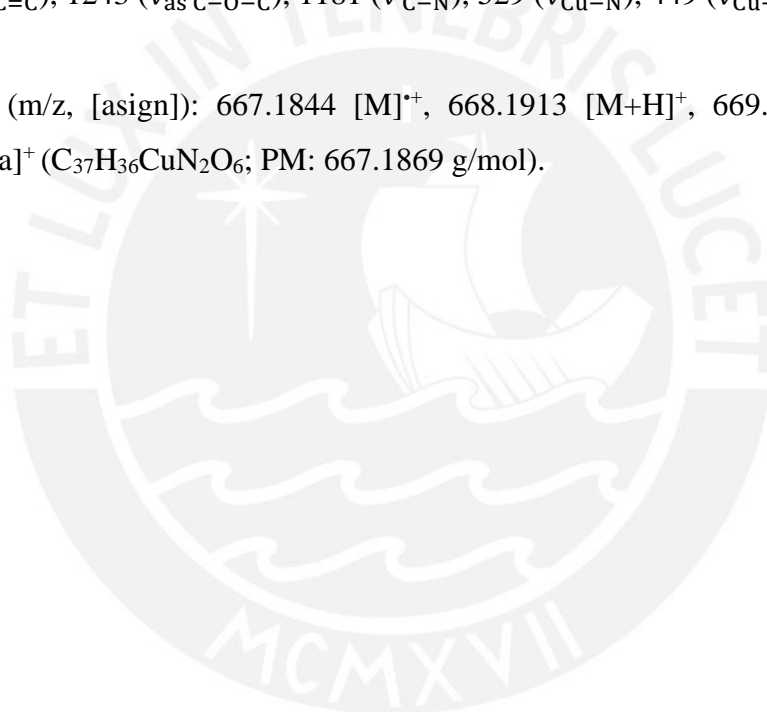
3.3.8 Síntesis de CuL₃

En un balón de 100 mL, se pesan 100 mg (0.352 mmol) de I₂ y se disuelven en 35 mL de etanol caliente. Luego, se agregan 59 μ L (0.704 mmol) de 1,3-diaminopropano e instantáneamente se observa que la mezcla cambia de un color amarillo a anaranjado. Después de 10 minutos, se

agrega gota a gota una solución con 35 mg de acetato de cobre (II) monohidratado (0.176 mmol) disueltos en la mínima cantidad de metanol caliente. Inmediatamente, se observa que la mezcla cambia de un color anaranjado a un color verde oscuro, además de la formación de un precipitado. Se deja la reacción bajo reflujo durante 6 horas y se monitorea la reacción por CCD con un sistema de solventes hexano/EtOAc (6:1). Finalmente, se evapora la mitad del solvente y se deja la mezcla enfriar por 24 horas para fomentar la precipitación del complejo. Se filtra a vacío el producto color verde oscuro y se lava con etanol helado. El producto no requirió de mayor purificación. Rendimiento: 95%.

FT-IR (cm^{-1}): 3016, 2993 ($\nu_{\text{C-H}}$ del alqueno aromático), 2932, 2831 ($\nu_{\text{C-H}}$ del metilo), 1614 ($\nu_{\text{C=N}}$), 1510 ($\nu_{\text{C=C}}$), 1243 ($\nu_{\text{as C-O-C}}$), 1181 ($\nu_{\text{C-N}}$), 529 ($\nu_{\text{Cu-N}}$), 449 ($\nu_{\text{Cu-O}}$).

FD-(+)-HRMS, (m/z, [assign]): 667.1844 $[\text{M}]^{++}$, 668.1913 $[\text{M+H}]^+$, 669.1917 $[\text{M}_{\text{Cu-65}}]^{++}$, 690.1746 $[\text{M+Na}]^+$ ($\text{C}_{37}\text{H}_{36}\text{CuN}_2\text{O}_6$; PM: 667.1869 g/mol).



4 RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1 Etapa 1: Síntesis y caracterización de I₁ e I₂

4.1.1 Síntesis de I₁ e I₂

La síntesis de I₁ e I₂ ocurre por la deshidratación de un alcohol secundario seguido de un acoplamiento de Heck Csp²-Csp² entre el bromuro de arilo y el estireno, generado *in situ*. La deshidratación del 4-metoxi- α -metilbencil alcohol se da por una eliminación clásica en atmósfera inerte, donde primero el grupo hidroxilo se protona por acción del ácido polifosfotúngstico (PTA) y, luego, ocurre la eliminación de una molécula de agua para la formación del doble enlace (**Figura 19**). El uso de atmósfera inerte y solventes anhidros evita que el agua reaccione con el PTA.

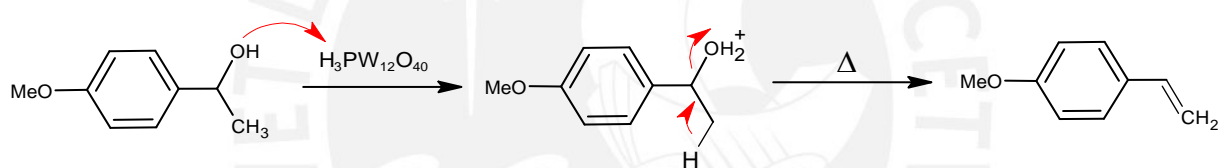


Figura 19: Propuesta del mecanismo de reacción de la deshidratación con PTA

La naturaleza del solvente influye en la selectividad y reactividad de los productos obtenidos catalizados por el PTA. En ese sentido, el solvente aprótico que suprimió la dimerización del α -metilestireno fue el DMSO, con lo cual se había logrado un rendimiento del 91% del estireno deseado, según lo reportado por P. Colbon y colaboradores, sin embargo, como la siguiente reacción ocurre inmediatamente después, no es posible conocer el rendimiento de este paso de reacción en nuestro caso.⁴²

Habiendo dado un tiempo de reacción para que ocurra la deshidratación, se introducen en el sistema de reacción los reactivos necesarios para que se lleve a cabo el acoplamiento de Heck, el cual consiste en la formación de un enlace C-C en presencia del catalizador de Pd(0) Pd(dba)₂ y la sal que contiene a la fosfina P(t-Bu)₃.HBF₄ en atmósfera inerte. El mecanismo de reacción de este acoplamiento se muestra en la **Figura 20**.

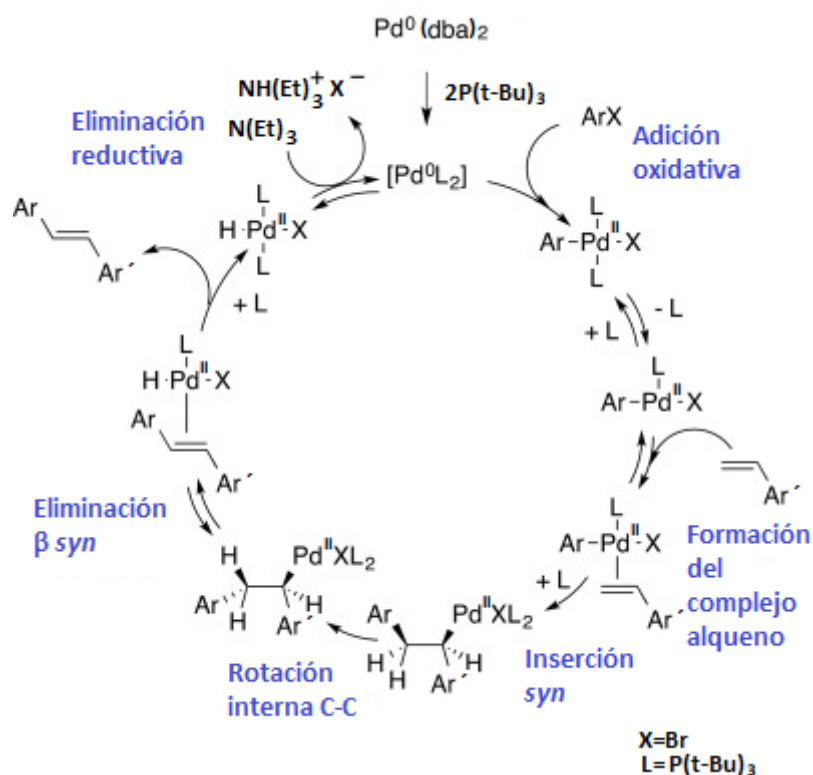


Figura 20: Propuesta del mecanismo de reacción del acoplamiento de Heck

Este acoplamiento empieza con la activación del catalizador de Pd(0) que ocurre por la sustitución de los ligandos bis(dibencilideneacetona) (dba) por las fosfinas $P(t-Bu)_3$. Luego, se da la adición oxidativa del bromuro de arilo; de esta manera, se forma un complejo cuadrado plano de Pd(II). Posteriormente, el ligando fosfina se disocia para que el estireno se pueda coordinar *side-on* y se dé la inserción migratoria 1,2 *syn* del enlace Pd-C al enlace C=C. Por último, la formación y posterior eliminación del producto trans-estilbeno ocurre por una eliminación β *syn* del hidrógeno al metal. Estas dos últimas reacciones tienden a ser regioselectivas, debido a un factor de impedimento estérico entre los grupos arilos y el complejo de Pd(II). Finalmente, el catalizador de Pd(0) se regenera por una eliminación reductiva, lo cual produce HBr que es neutralizado por la $N(Et)_3$.

Las condiciones de reacción empleadas para este acoplamiento fueron a $100^\circ C$ y bajo atmósfera inerte. La alta temperatura se debe, principalmente, al paso de eliminación reductiva que involucra la ruptura de dos enlaces para regenerar el catalizador de Pd(0). Por otro lado, la

atmósfera inerte evita que el agua o el oxígeno oxiden el catalizador u otras especies intermediarias del ciclo catalítico.

La gran versatilidad que ha demostrado este acoplamiento al emplear distintos sustituyentes donadores de electrones o deficientes de electrones en el bromuro de arilo posibilitó la síntesis de los intermediarios **I** e **I** con rendimientos del 41% y 35%, luego de ser purificados mediante recristalizaciones, empleando un método nunca antes reportado para la síntesis de estos compuestos en particular.

El bajo rendimiento de este acoplamiento en *one pot*, en comparación con la síntesis de otros derivados de estilbenos reportados por P. Colbon y colaboradores (66-85%)⁴², probablemente se deba a la reactividad del grupo aldehído presente en el 5-bromosalicilaldehído y 5-bromo-2-hidroxi-3-metoxibenzaldehído. Diversos autores han reportado la acilación directa de haluros de arilo con aldehídos en presencia de catalizadores de Pd para producir arilcetonas.⁵⁰⁻⁵² Así, un posible mecanismo que estaría compitiendo con el acoplamiento de Heck en nuestro caso sería el homoacoplamiento de los bromuros de arilo que se muestra en la **Figura 21**.

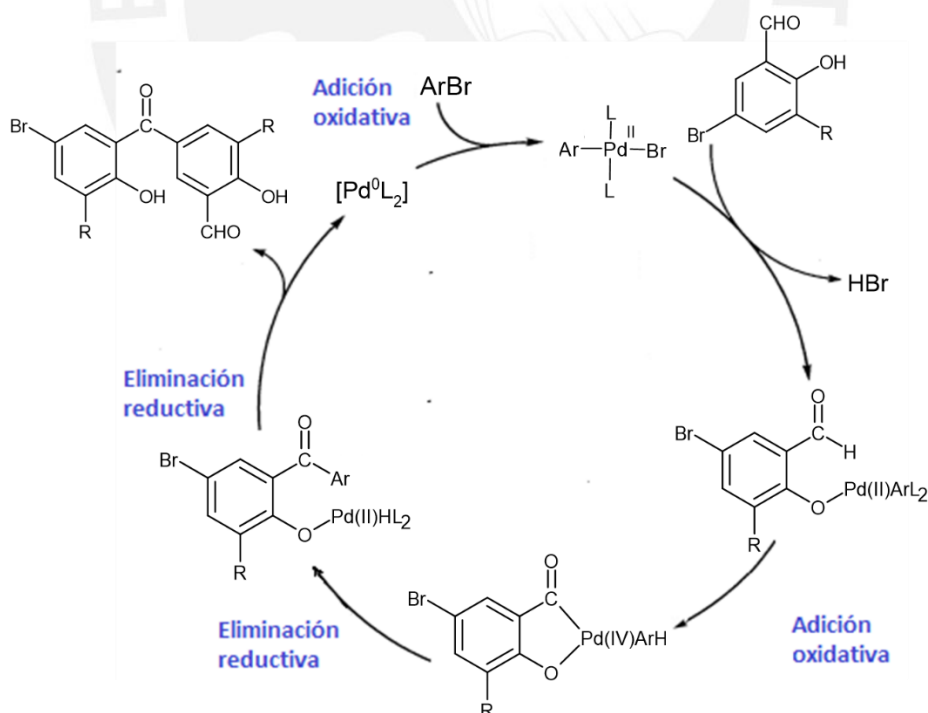


Figura 21: Propuesta del mecanismo de reacción del homoacoplamiento de los bromuros de arilo catalizado por Pd(0)

Este homoacoplamiento comienza con la adición oxidativa del bromuro de arilo al complejo activo de Pd(0) generado *in situ* a partir de la sustitución de los ligandos bis(dibencilideneacetona) (dba) por las fosfinas P(t-Bu)₃. Así, se forma un complejo cuadrado plano de Pd(II). Seguidamente, ocurre la formación de HBr por acción de una sustitución nucleofílica de una segunda molécula de 5-bromosalicilaldehído al Pd(II). A continuación, se da otra adición oxidativa que lleva al complejo de Pd(II) a Pd(IV). Por último, se dan dos eliminaciones reductivas que permiten la obtención de la arilcetona y la regeneración del catalizador de Pd(0). Así, este mecanismo paralelo al acoplamiento de Heck estaría consumiendo uno de los reactivos de partida y, por ende, afectando el rendimiento de esta etapa de síntesis. Aunque se observó otros subproductos en la mezcla de reacción, estos no se identificaron y se prosiguió con la caracterización de los intermediarios de interés I₁ e I₂.

4.1.2 Caracterización de I₁ e I₂

Los intermediarios I₁ e I₂ fueron caracterizados por espectroscopía infrarroja (FTIR) y resonancia magnética nuclear (RMN). Las asignaciones de las señales en los espectros ¹H-RMN fue directa, mientras que en los espectros ¹³C-RMN se requirió de técnicas espectroscópicas bidimensionales como ¹H-¹H COSY y ¹H-¹³C HSQC para asignar todas las señales.

4.1.2.1 Espectroscopía infrarroja

En los espectros FTIR de los intermediarios (**Figuras 22 y 23**) se observan dos picos ligeramente anchos a 3195 y 3166 cm⁻¹ que corresponden a la vibración por el estiramiento de los enlaces O-H del anillo aromático. La disminución significativa en el número onda y en la intensidad de la señal, en comparación con la señal clásica de los grupos hidroxilos, se atribuye al puente de hidrógeno intramolecular entre los grupos contiguos O-H y aldehído.⁵³ Asimismo, las señales que aparecen a 3018 cm⁻¹ estarían asociadas a los estiramientos de los enlaces C-H de los alquenos aromáticos. Adicionalmente, se muestran una serie de picos entre 3000-2800 cm⁻¹ característicos de los estiramientos C-H de los metilos en los grupos éter.

Las señales intensas a 1661 cm⁻¹ se deben a los estiramientos de los enlaces carbonilo (C=O). Estas señales aparecen a un menor número de onda que los aldehídos alifáticos (1740-1720

cm^{-1}) debido al puente de hidrógeno intermolecular. Los dos picos a 1601 y 1609 cm^{-1} corresponden al estiramiento simétrico de los enlaces $\text{C}=\text{C}$ de los anillos aromáticos, mientras que las señales a 1509 y 1516 cm^{-1} estarían asociadas al estiramiento asimétrico del mismo enlace. Por otro lado, las bandas a 1248 y 1253 cm^{-1} se asignan a la absorción del estiramiento asimétrico $\text{C}-\text{O}-\text{C}$, mientras que aquellas a 1027 y 1032 cm^{-1} corresponden al estiramiento simétrico $\text{C}-\text{O}-\text{C}$. Finalmente, algunas de las señales entre 900 - 675 cm^{-1} son propias de las flexiones fuera del plano de los enlaces $\text{C}-\text{H}$ de los anillos aromáticos.

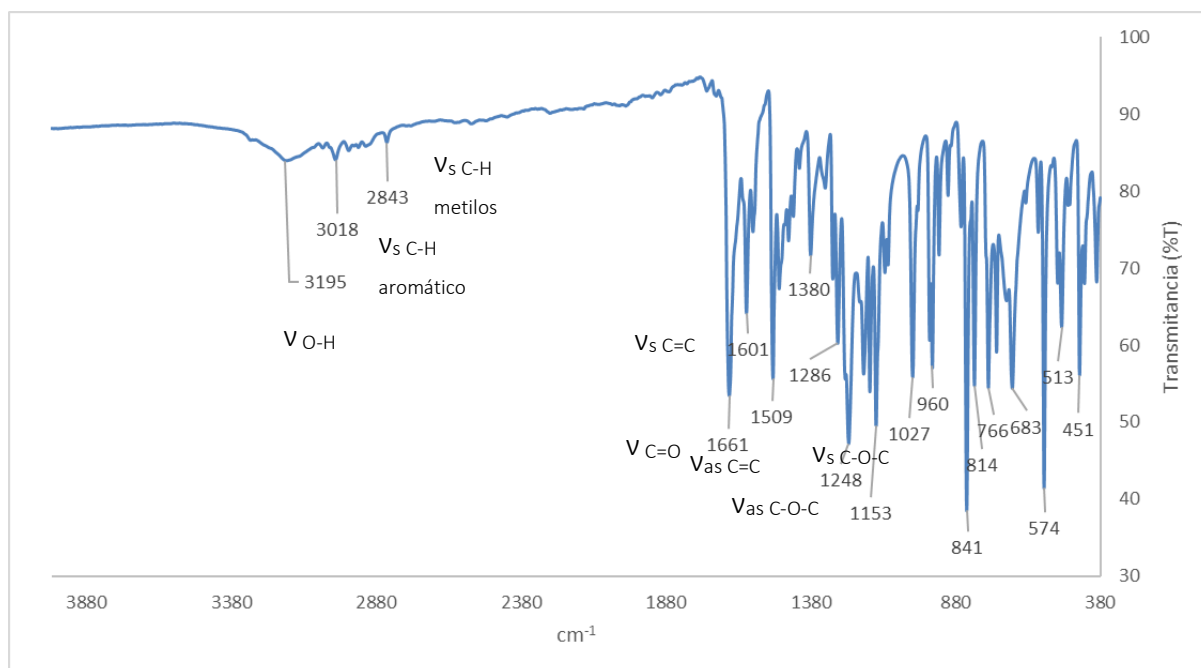


Figura 22: Espectro FTIR de **I₁**

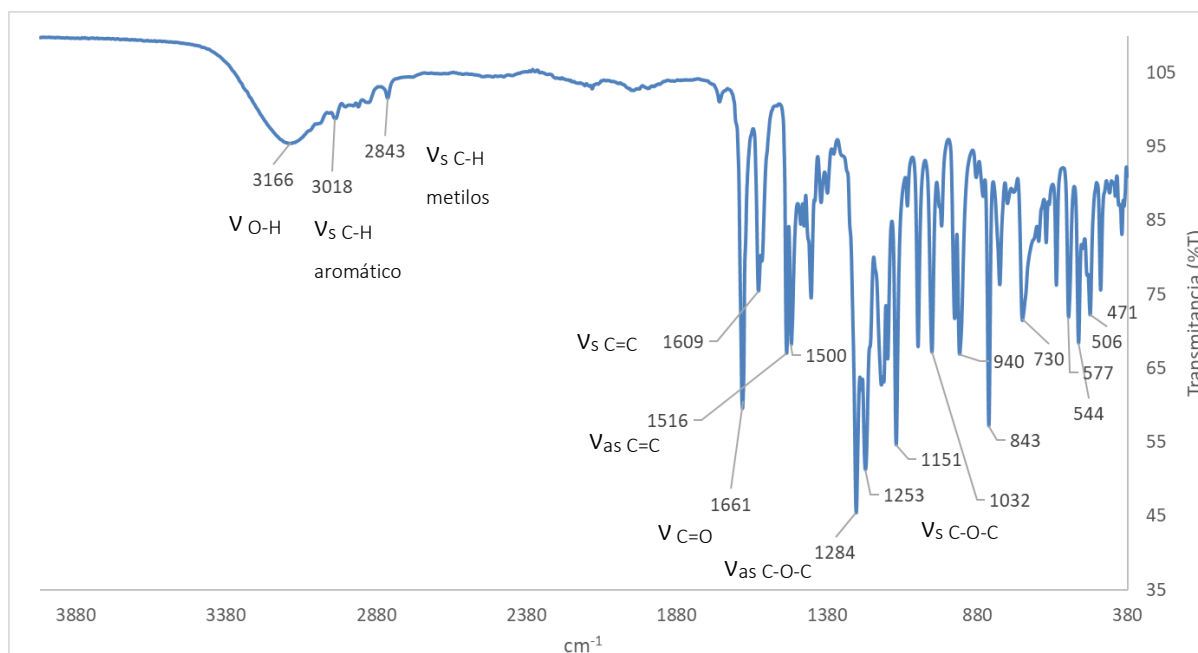


Figura 23: Espectro FTIR de **I₂**

4.1.2.2 Espectroscopía de resonancia magnética nuclear

Los espectros por resonancia magnética nuclear ¹H-RMN de los intermediarios estilbено **I₁** e **I₂** presentan señales en el rango de los hidrógenos aromáticos 6.9-7.7 ppm (**Figuras 24 y 25**). Además, se muestran dos singuletes a 3.86 y 4.01 ppm correspondientes a los tres hidrógenos del grupo metoxi. También, se observan dos picos bien definidos a 9.96 ppm característicos del hidrógeno del aldehído, así como una señal a 11.0 ppm que se atribuye al hidrógeno fenólico. Esta señal aparece a un mayor desplazamiento químico en comparación con otros hidrógenos fenólicos debido al puente de hidrógeno intermolecular con el grupo carbonilo, lo cual incrementa el grado de desprotección de este protón.

Entre los picos aromáticos, cabe destacar, dos dobletes entre 6.94-7.04 ppm con un acoplamiento (J) de ~16.3 Hz, típico de hidrógenos de alquenos en una configuración trans. Por otro lado, se observa que los protones en posiciones orto a los grupos metoxi e hidroxilo están más protegidos que los protones en posición meta, ya que el oxígeno, a través de su par de libre, dona densidad electrónica por resonancia al anillo, desplazando las señales por debajo de los 7.2 ppm, característicos de los hidrógenos aromáticos. Otro efecto a tomar en consideración es el efecto inductivo y resonancia que genera el grupo carbonilo removiendo

densidad electrónica del anillo aromático y; por tanto, desprotegiendo los protones hacia campos más bajos.

La asignación completa de las señales aromáticas se logra mediante la relación entre sus constantes de acoplamiento (J). Dada las posiciones de los hidrógenos en el anillo bencénico se puede determinar los distintos acoplamientos del tipo orto y meta (6-10 y 1-3 Hz). La asignación de todas las señales en **I**₁ e **I**₂ puede comprobarse mediante el análisis del espectro bidimensional ¹H -¹H COSY, donde se observa una correlación entre los acoplamientos homonucleares de los protones (**Figura 26 y 27**). De acuerdo con dichos espectros, se observa que existe un acoplamiento en forma de dobletes entre los hidrógenos H₃ y H₇ (7.46 y 6.93 ppm) de **I**₁ y los hidrógenos H₁ y H₆ (7.46 y 6.93 ppm) de **I**₂. De la misma forma, los hidrógenos del alqueno trans H₅ y H₆ (7.00 y 6.94 ppm) de **I**₁ y los hidrógenos H₄ y H₅ (7.00 y 6.94 ppm) de **I**₂ presentan un acoplamiento de dobletes. Por último, se tiene la correlación múltiple entre los tres protones del segundo anillo aromático de **I**₁, donde H₄ (7.01 ppm) acopla con H₁ (7.72 ppm) por encontrarse en posición orto y, a su vez, H₁ acopla ligeramente con el protón en la posición meta H₂ (7.65 ppm).

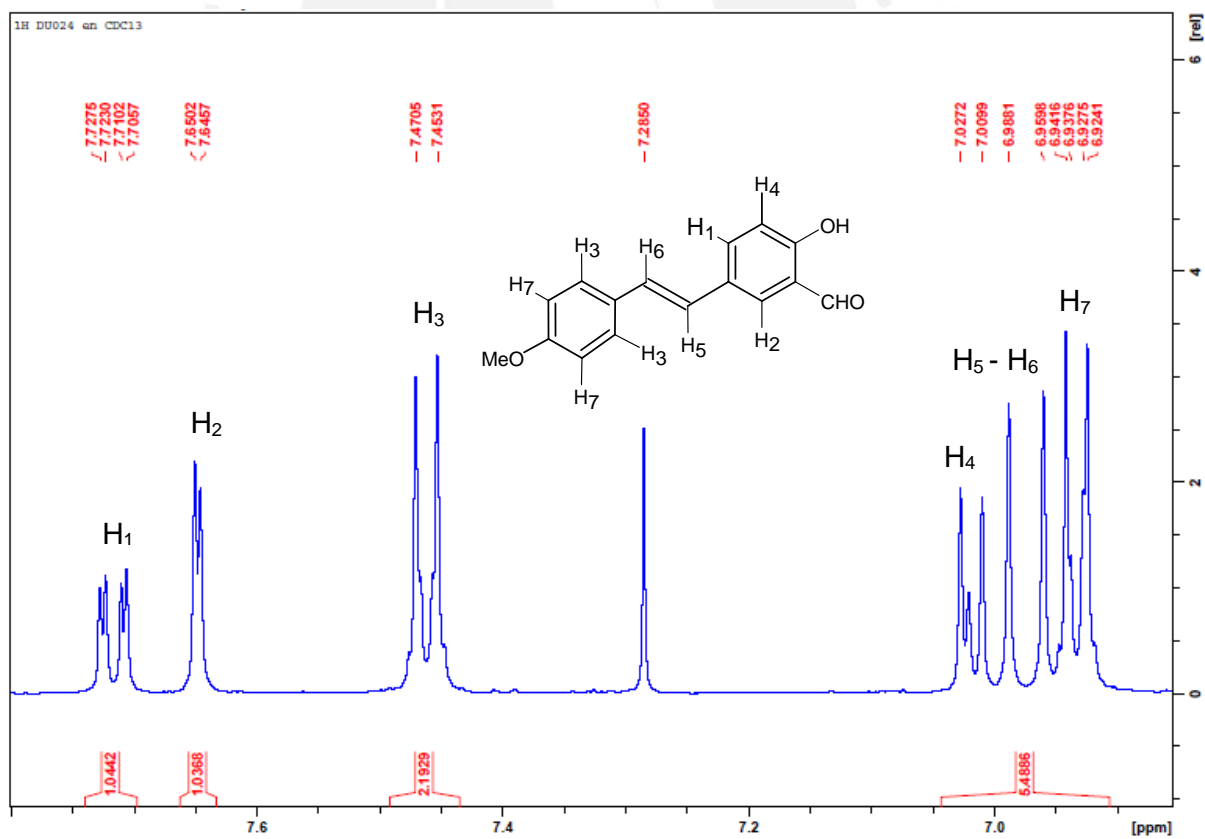
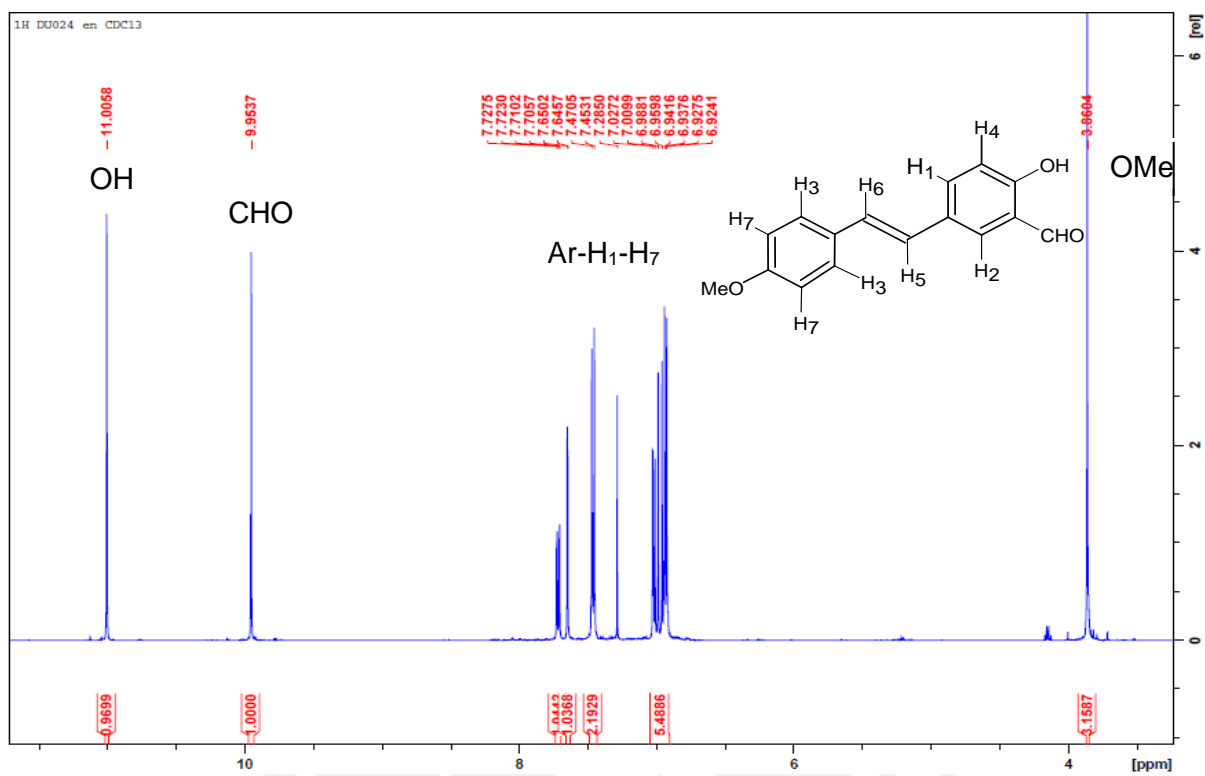


Figura 24: Espectros ¹H-RMN a 500 MHz de **I1** en CDCl₃

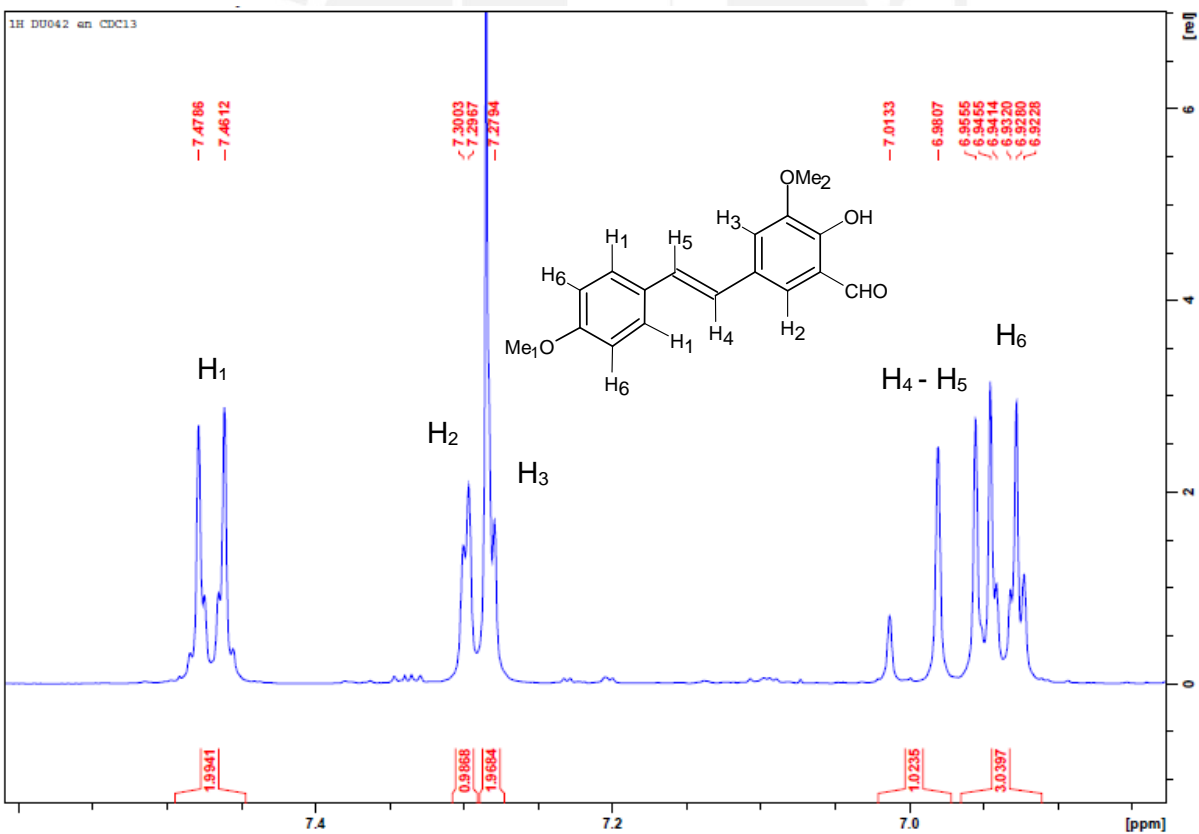
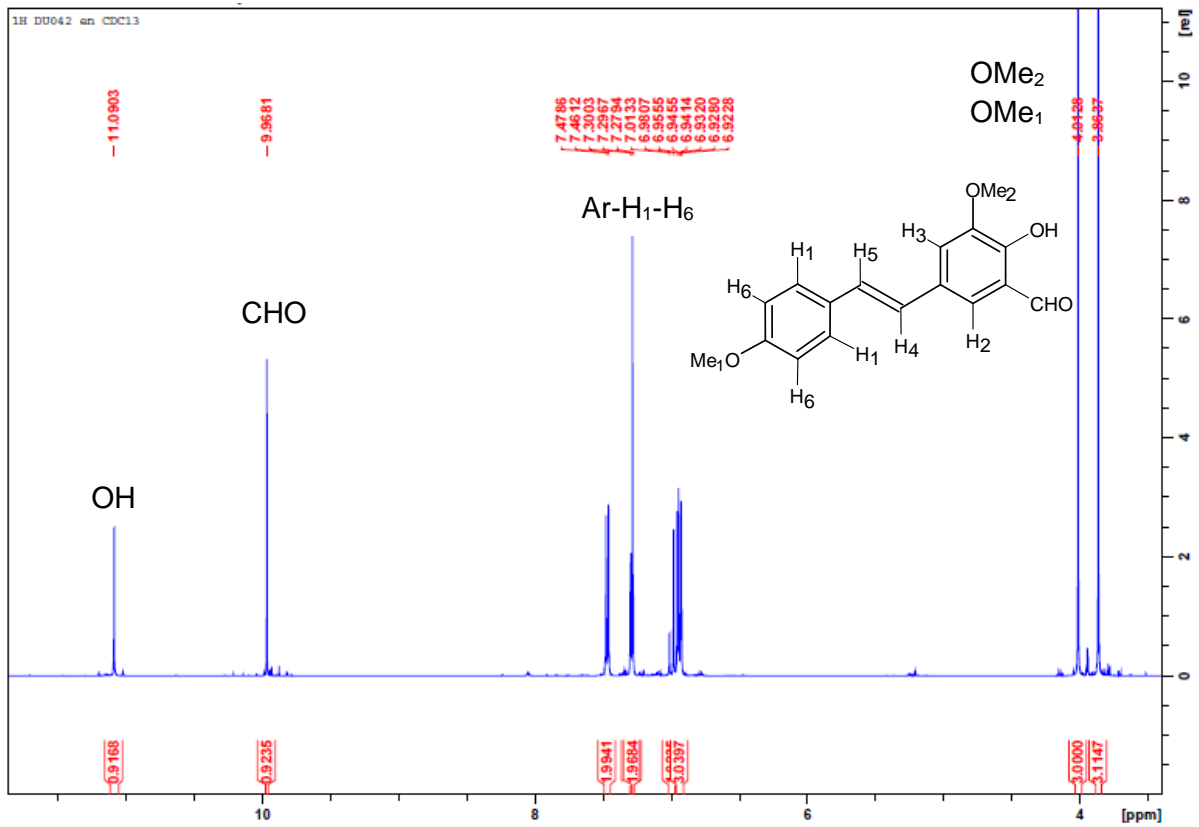


Figura 25: Espectros ¹H-RMN a 500 MHz de **I₂** en CDCl₃

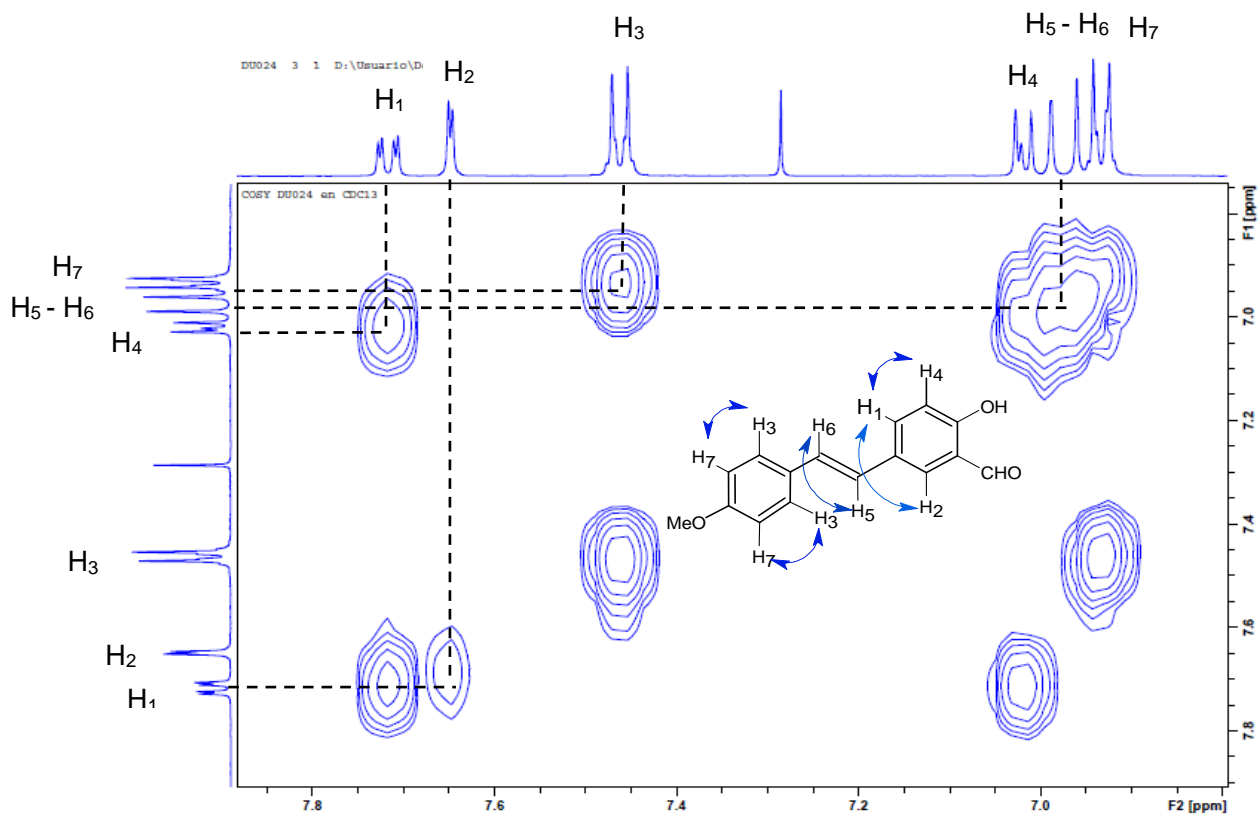


Figura 26: Espectro bidimensional ^1H - ^1H COSY RMN de la región aromática de **I1** en CDCl_3

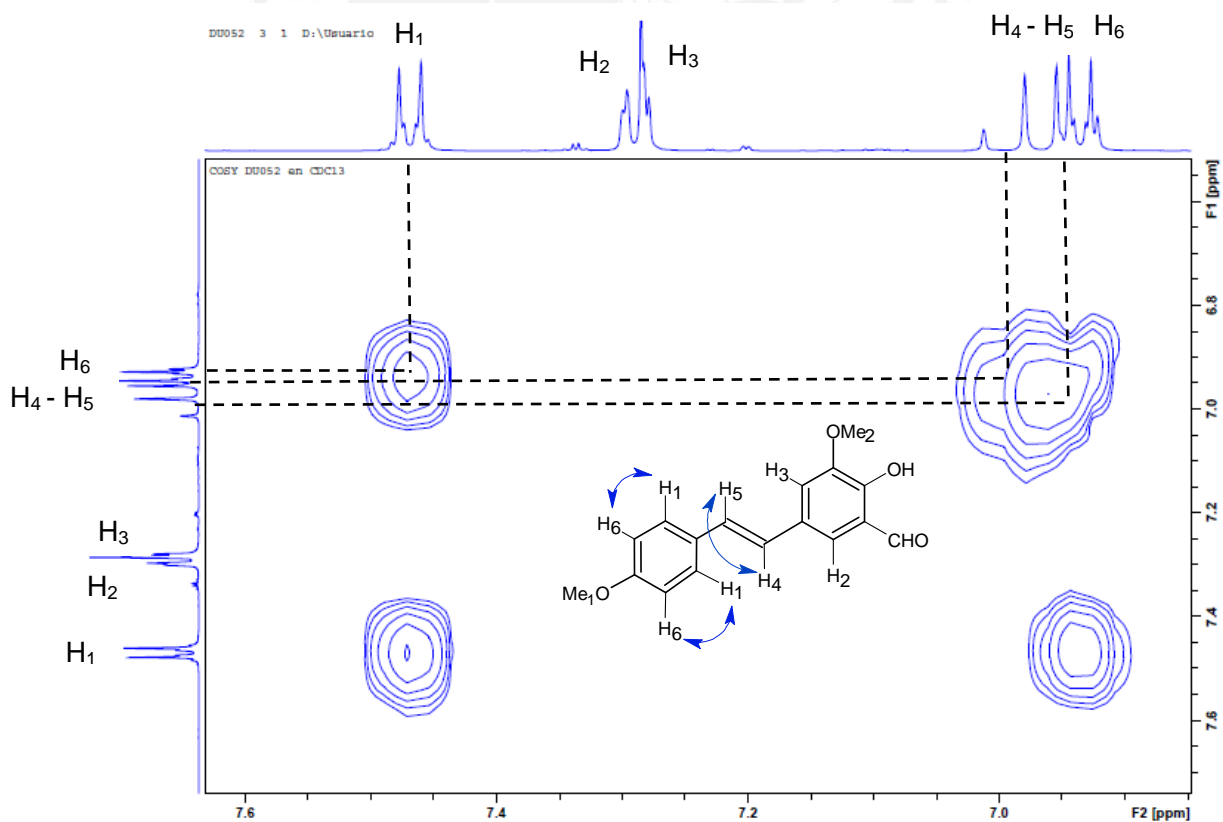


Figura 27: Espectro bidimensional ^1H - ^1H COSY RMN de la región aromática de **I2** en CDCl_3

Por otro lado, en los espectros de ^{13}C -RMN de **I₁** (**Figura 28**) e **I₂** (**Figura 29**) se observan catorce y quince señales, respectivamente. De estas, aquellas que aparecen en el rango entre 114-160 ppm corresponden a los carbonos del anillo aromático. En este grupo de señales, se observan dos pares de picos de mayor intensidad que integran por dos carbonos, C₃ y C₇ de **I₁** y C₁ y C₆ de **I₂**, debido al plano de simetría que presentan las moléculas. De la misma forma que en los espectros de ^1H -RMN se puede apreciar que los carbonos en posiciones orto y para a los grupos metoxi e hidroxilo están más protegidos que los carbonos en posición meta. Adicionalmente, se tienen dos pares de señales a 127.7 y 124.5 ppm (C₅ y C₆) de **I₁** y 127.7 y 124.9 ppm (C₄ y C₅) de **I₂** que pertenecen a los Csp² del alqueno sustituido. Las señales más protegidas a 55 y 56 ppm estarían asociadas al grupo metilo del metoxi, el cual se encuentra desplazado hacia campos más bajos, en comparación con los alquilos terminales que aparecen en un rango típico entre 10-30 ppm. Por último, la señal a 196.6 ppm corresponde al carbono desprotegido del aldehído debido a la alta polarización del enlace C=O hacia el átomo más electronegativo que es el oxígeno.

La asignación completa de las señales de los espectros de ^{13}C -RMN se realizó con la ayuda de la técnica bidimensional ^1H - ^{13}C HSQC que correlaciona los núcleos de carbono e hidrógeno separados por un enlace (**Figuras 30 y 31**). De esta manera, fue posible asignar cada señal de carbono con su respectivo protón y distinguir las señales de carbonos cuaternarios (C_q) con aquellas que correlacionan con algún protón.

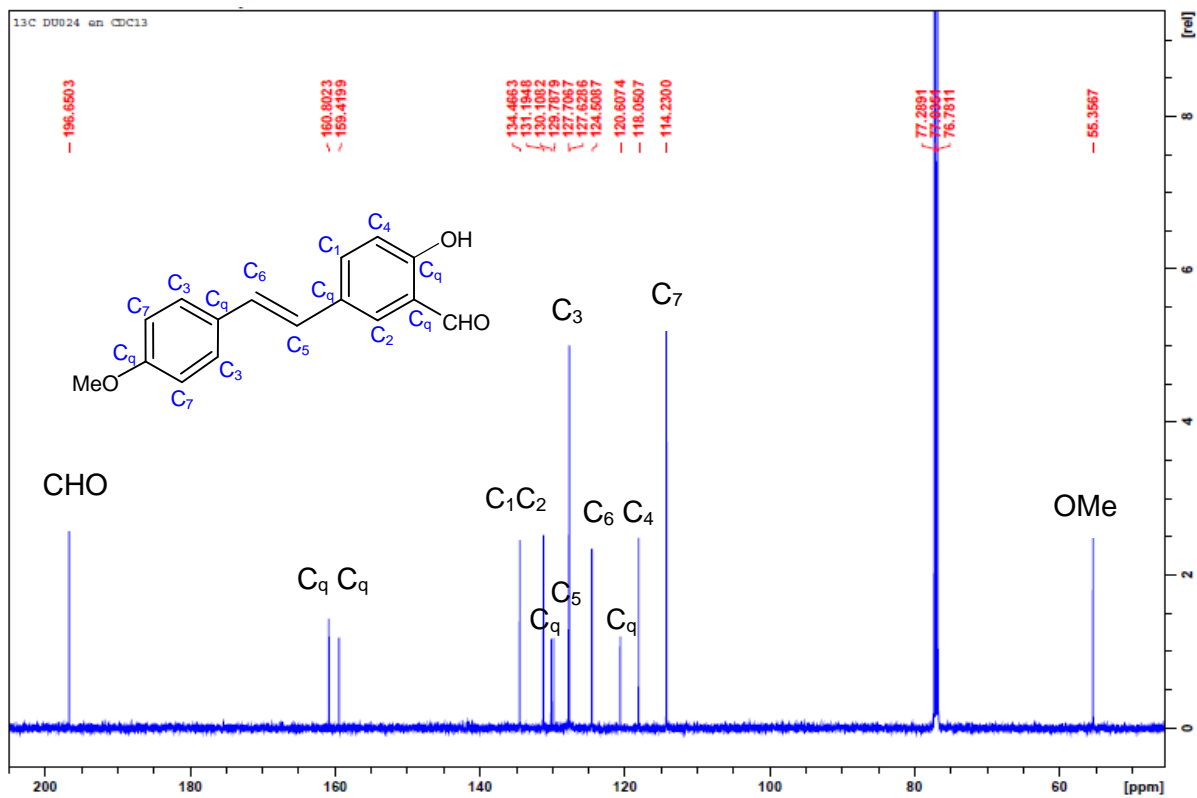


Figura 28: Espectro ^{13}C -RMN a 125 MHz de **I1** en CDCl_3

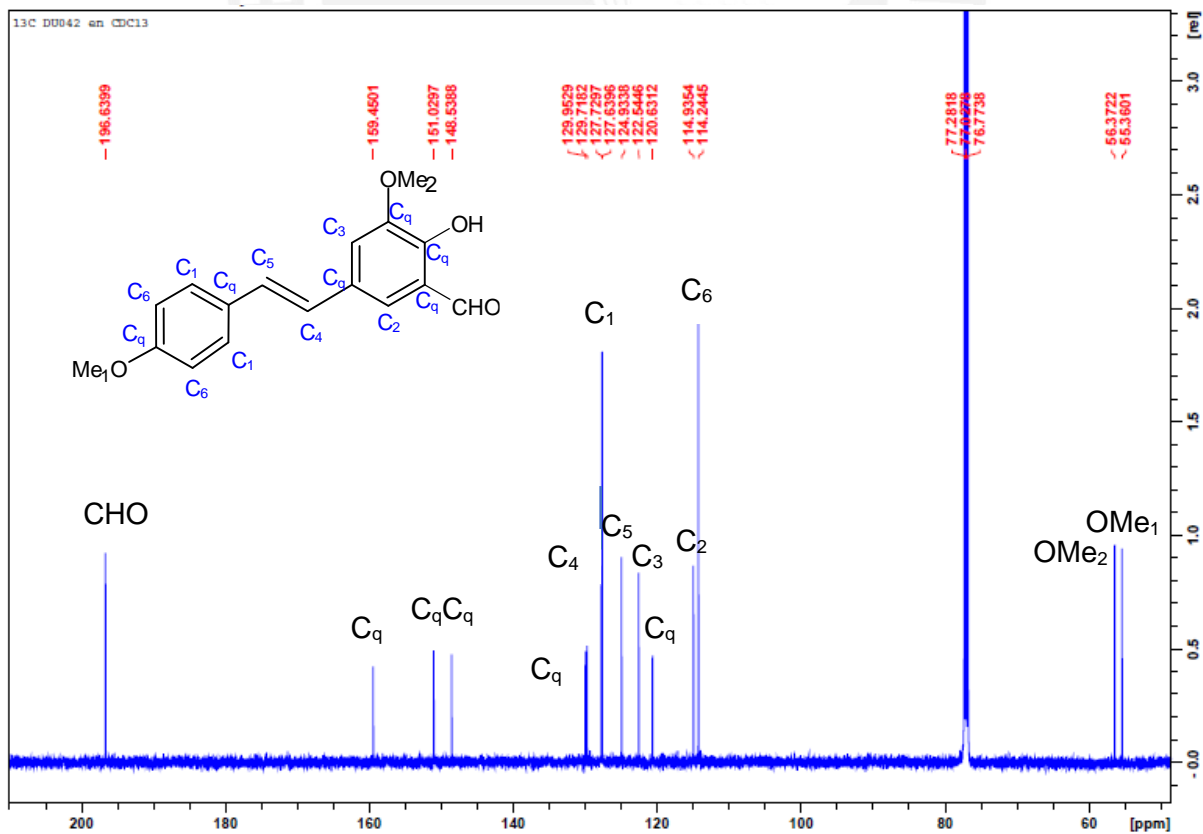


Figura 29: Espectro ^{13}C -RMN a 125 MHz de **I2** en CDCl_3

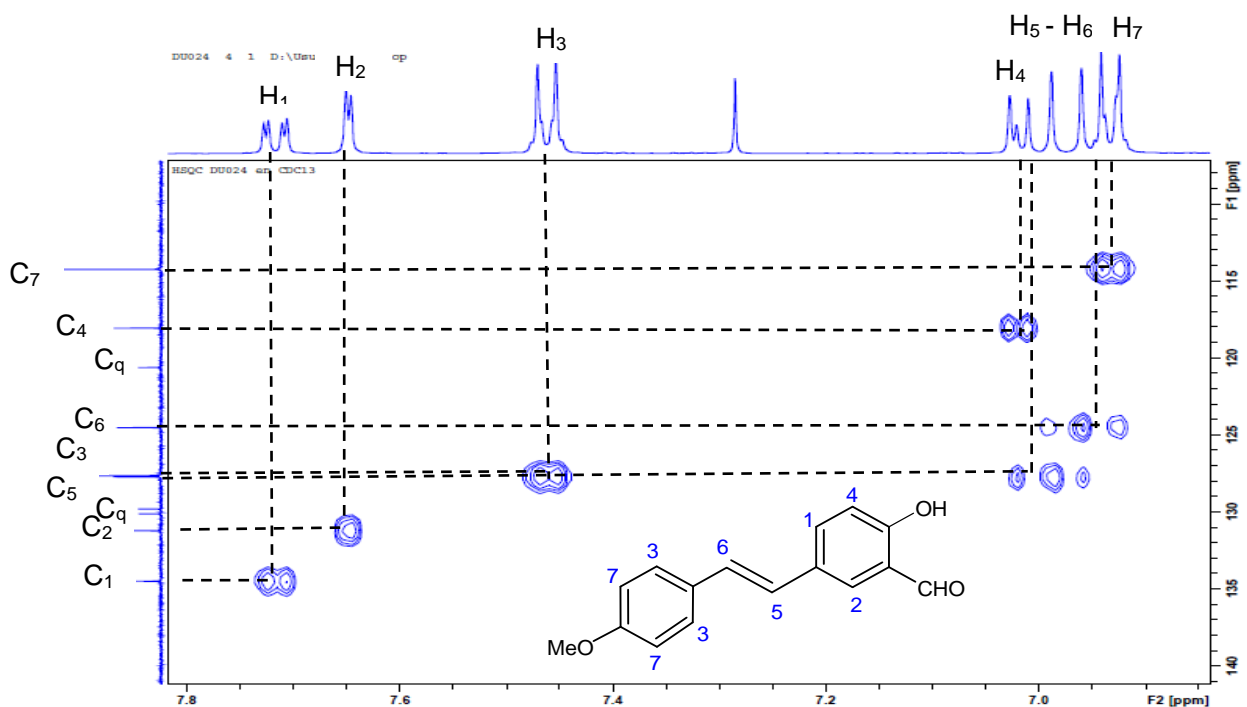


Figura 30: Espectro bidimensional ^1H - ^{13}C HSQC RMN de la región aromática de **I**₁ en CDCl_3

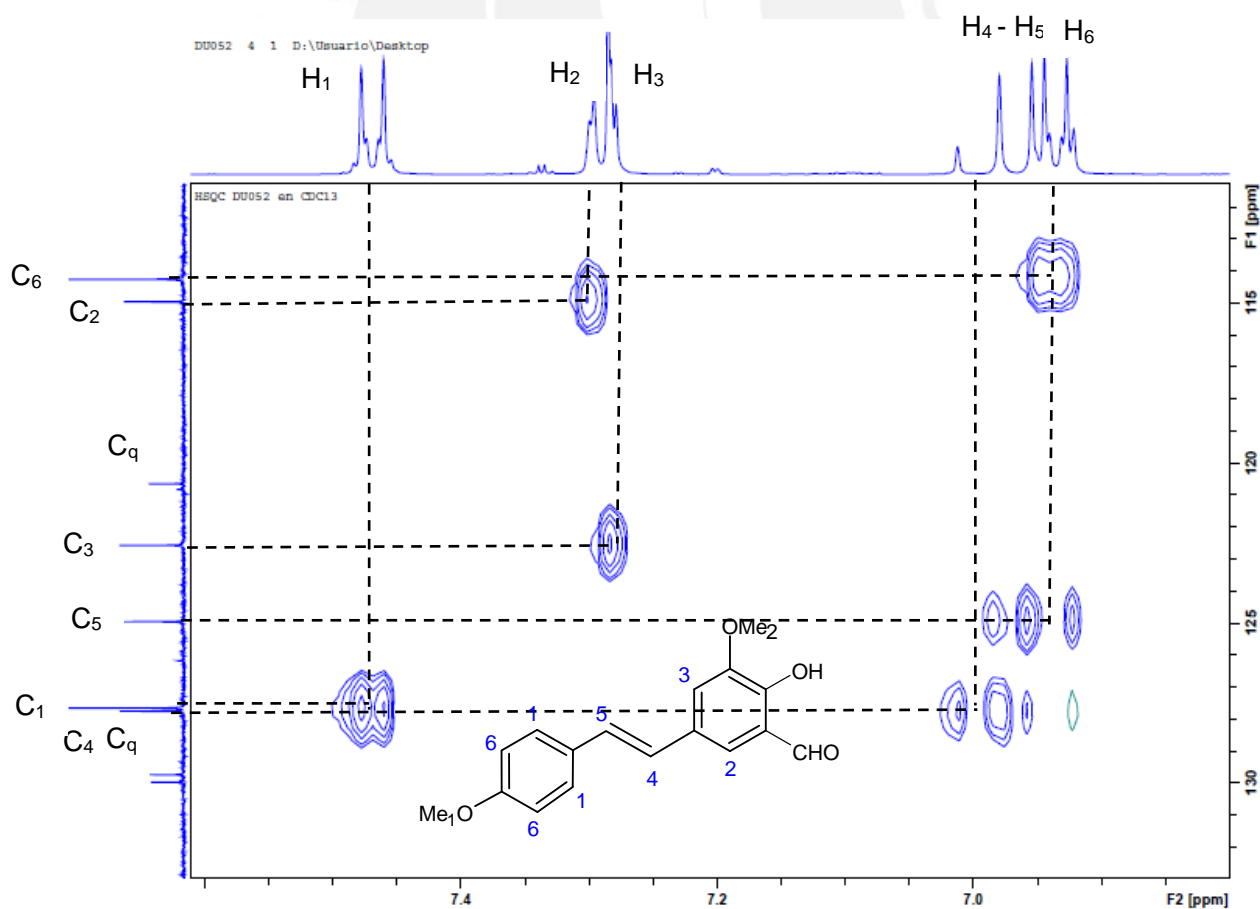


Figura 31: Espectro bidimensional ^1H - ^{13}C HSQC RMN de la región aromática de **I**₂ en CDCl_3

4.2 Etapa 2: Síntesis y caracterización de L₁₋₃

4.2.1 Síntesis de L₁₋₃

La síntesis de los ligandos simétricos L₁₋₃ se da por la condensación entre el grupo carbonilo de I₁ o I₂ con una amina alifática. El mecanismo de reacción empieza con el ataque nucleofílico de la diamina al grupo carbonilo del estilbeno (**Figura 32**). Esto genera un intermediario hemiaminal inestable que se deshidrata para formar la imina. De la misma manera, la amina que no había reaccionado ataca nucleofílicamente a otra molécula de estilbeno; de esta forma, se obtiene el ligando simétrico.

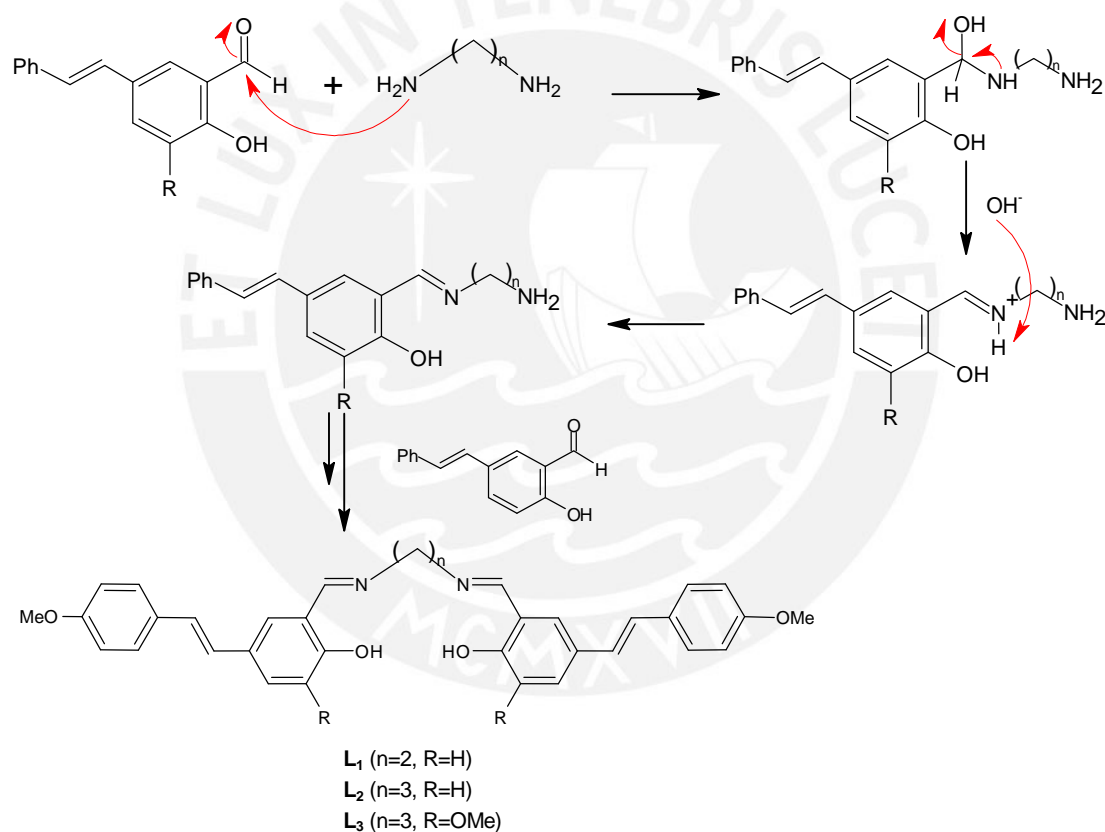


Figura 32: Propuesta del mecanismo de reacción para la formación de los ligandos L₁₋₃ del tipo bases de Schiff

A pesar de que en cada etapa de este mecanismo de reacción se muestra que se está favoreciendo la condensación, esta reacción se encuentra en equilibrio químico. Por tanto, para promover la formación de los productos e incrementar el rendimiento de la reacción se busca

la precipitación de los ligandos ya que esto permite desplazar el equilibrio químico favorablemente.

Inicialmente, se probó realizar la condensación para la formación de los ligandos **L**₁₋₃ en etanol y metanol adaptando los métodos reportados en la literatura.^{45,46} En el caso de las condensaciones de **L**₁ y **L**₂ se observaba inmediatamente la formación de un precipitado color crema, el cual era aislado por filtración a vacío. Sin embargo, cuando se trataba de disolver los ligandos en CDCl₃-d₁ o DMSO-d₆ para ser analizados por RMN la solubilidad de los compuestos era muy baja, a pesar de emplear condiciones de calentamiento y sonicación por largos periodos de tiempo. Las bajas concentraciones de los ligandos en las muestras de RMN se veían reflejadas en la baja relación señal/ruido en los espectros lo cual impedía la asignación de todas las señales.

No obstante, un cambio en la elección del solvente de reacción introdujo ciertas mejoras en la síntesis de los ligandos. Cuando la reacción de formación de **L**₂ se llevó a cabo en cloroformo, no se observó la formación de un precipitado, contrario a lo que ocurría con etanol. Por ello, el ligando **L**₂ se aisló mediante evaporación del solvente a presión reducida y se lavó con EtOAc para remover cualquier remanente de intermediario **I**₁ o diamina que no haya reaccionado. Sorprendentemente, el ligando es soluble en CDCl₃-d₁, por lo que pudo ser caracterizado por RMN.

En el caso de la formación del ligando **L**₁, la reacción de condensación en cloroformo se comportó de manera similar que cuando se empleó etanol como solvente, solo que esta vez el precipitado era color amarillo-anaranjado, pero igual presentó una baja solubilidad en CDCl₃-d₁ y DMSO-d₆ por lo que no pudo ser analizado por RMN. Sin embargo, como se verá en el siguiente apartado, sí fue posible confirmar la formación de **L**₁ por HRMS.

El cambio de un solvente prótico a uno aprótico afectó significativamente la solubilidad de los ligandos y los intermediarios que se forman en esta reacción de condensación, especialmente para la síntesis de **L**₂. Esto podría favorecer principalmente la síntesis de los ligandos simétricos y reducir la formación de otros subproductos, como el ligando asimétrico u otros polímeros, que podrían precipitar para formar mezclas bastante insolubles.

Por otro lado, la condensación de **L₃** se realizó por 48 horas en metanol. Se observó que inmediatamente después de agregar la 1,3-diaminopropano la mezcla cambió a un color anaranjado pero sin formar precipitado alguno, incluso al término del tiempo de reacción. Por ello, el ligando **L₃** se aisló por filtración a vacío luego de forzar su precipitación al añadir agua a la mezcla. Para este último ligando se pudo notar que fue necesario un tiempo de reacción más prolongado para que el intermediario **I₂** reaccione en su totalidad con la diamina. La cinética más lenta de formación del ligando **L₃**, en comparación con los ligandos **L₁** y **L₂**, se atribuye a la presencia del grupo metoxi en posición orto al grupo OH y meta al grupo CHO en **I₂**, lo que probablemente genera un mayor impedimento estérico para que la diamina reaccione con el grupo carbonilo del intermediario.

Por último, la diferencia entre el ligando **L₁** y los ligandos **L₂** y **L₃**, radica en la longitud de la cadena alifática, en el primer caso de dos carbonos y en el segundo de tres. Esta ligera variación origina cambios significativos en la solubilidad de los compuestos, siendo más solubles aquellos con el grupo propil. Esto originó que el ligando **L₁** precipite rápidamente en cualquier medio de reacción y que sea insoluble, lo cual imposibilitó la elucidación de este compuesto por RMN, como se verá en el siguiente acápite. En otros compuestos análogos sintetizados por nuestro grupo de investigación se ha observado que los compuestos con cadena etil son más rígidos que aquellos con cadena propil, y esto último podría replicarse en estos compuestos, afectando la polaridad de las moléculas y su interacción con los solventes.

4.2.2 Caracterización de **L₁₋₃**

Los ligandos **L₁₋₃** fueron caracterizados por espectroscopía infrarroja (FTIR) y espectrometría de masas de alta resolución (HRMS). Asimismo, para los ligandos **L₂** y **L₃** fue posible realizar su caracterización por RMN; sin embargo, para el ligando **L₁** no se pudo obtener ningún espectro debido a su baja solubilidad, discutida en la sección anterior. La asignación de las señales en el espectro ¹H-RMN fue directa, mientras que en el espectro ¹³C-RMN se requirió de técnicas espectroscópicas bidimensionales como ¹H-¹H COSY y ¹H-¹³C HSQC para asignar todas las señales.

4.2.2.1 Espectroscopía infrarroja

La observación más importante en los espectros FTIR de los ligandos **L₁**, **L₂** y **L₃** (**Figuras 33**, **34** y **35**) corresponde a la aparición de dos señales entre 1626-1636 cm^{-1} y 1175-1177 cm^{-1} , correspondientes a la formación de los enlaces C=N de la imina, y la desaparición de la señal a 1661 cm^{-1} de los intermediarios **I₁** e **I₂** que estaría asociada al estiramiento del grupo carbonilo del aldehído. Esto confirmaría la formación de los ligandos esperados.

En los **Anexos I**, **II** y **III** se muestran la superposición de los espectros FTIR de los intermediarios con la de los ligandos **L₁**, **L₂** y **L₃**, respectivamente. Al igual que en los espectros de los intermediarios se puede identificar en los espectros de los ligandos las mismas señales a la misma frecuencia o con ligeros desplazamientos, lo cual confirma que la estructura aromática se ha mantenido en ambos ligandos como era de esperarse. Se puede observar los estiramientos del enlace C-H del alqueno aromático a 3025-3018 cm^{-1} , la serie de picos entre 3000-2800 cm^{-1} característicos del estiramiento C-H de los metilos en los grupos alifáticos, los picos a 1604-1606 y 1510 cm^{-1} correspondientes al estiramiento simétrico y asimétrico de los enlaces C=C de los anillos aromáticos, las bandas a 1245-1248 cm^{-1} que se atribuyen a la absorción del estiramiento asimétrico C-O-C y las bandas a 1029-1030 cm^{-1} que corresponden al estiramiento simétrico C-O-C.

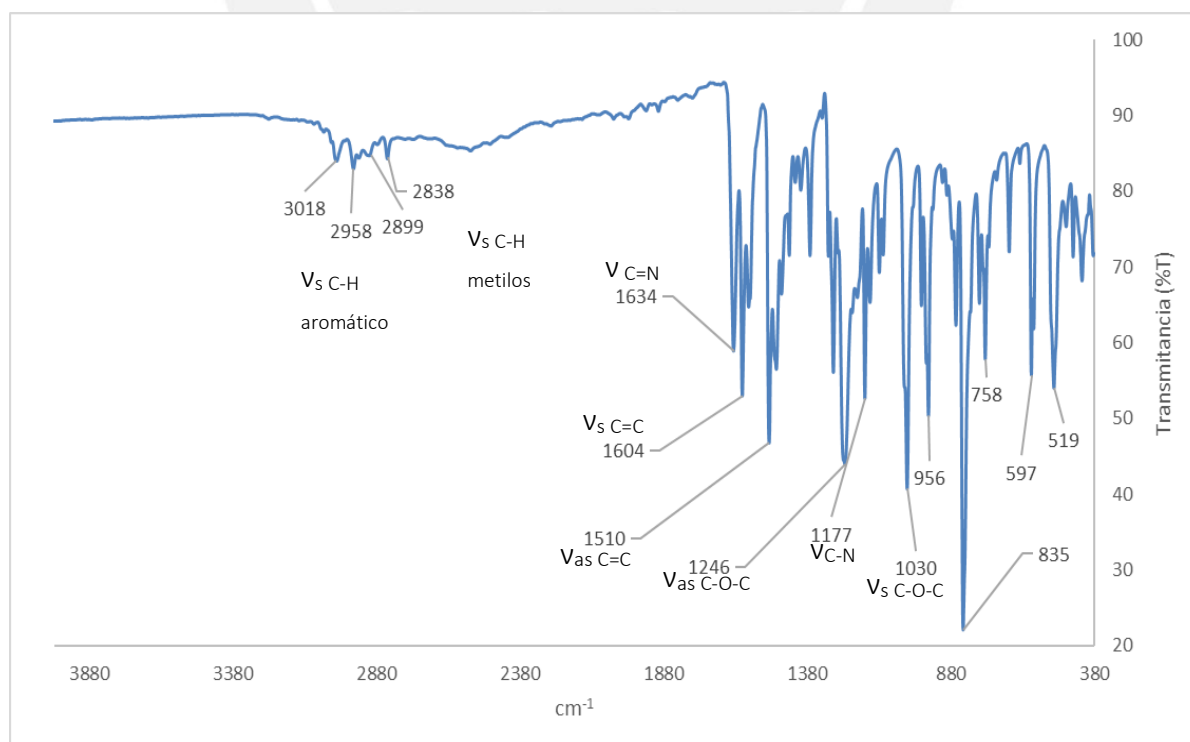


Figura 33: Espectro FTIR de **L₁**

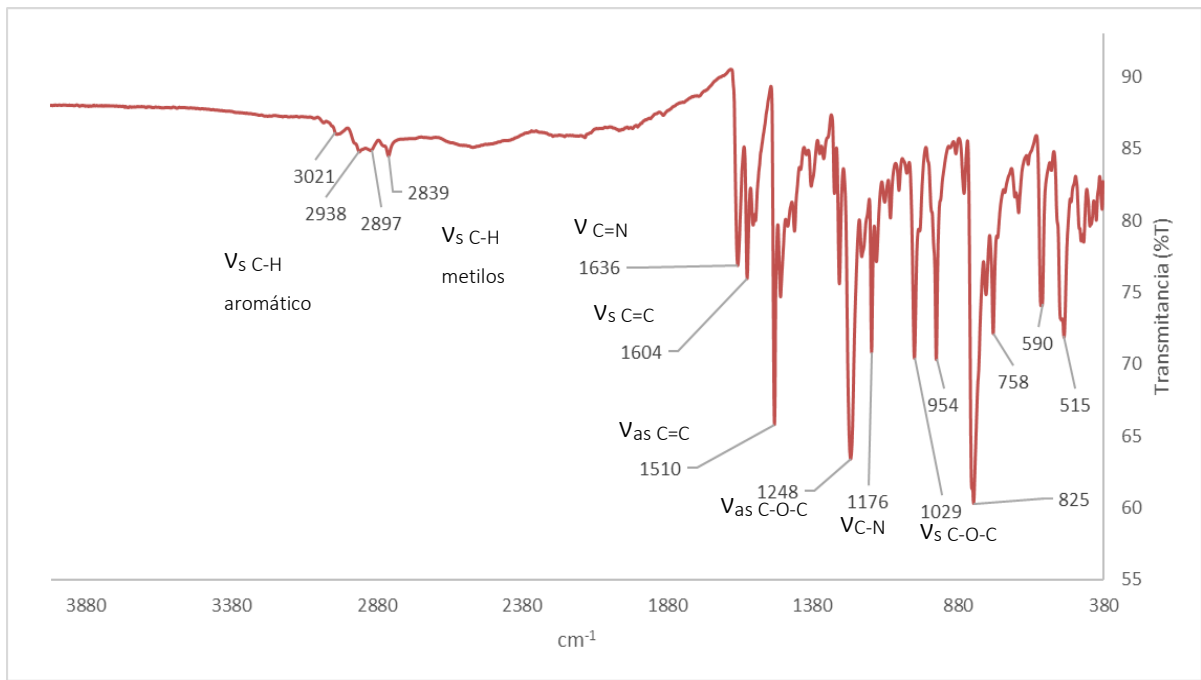


Figura 34: Espectro FTIR de L₂

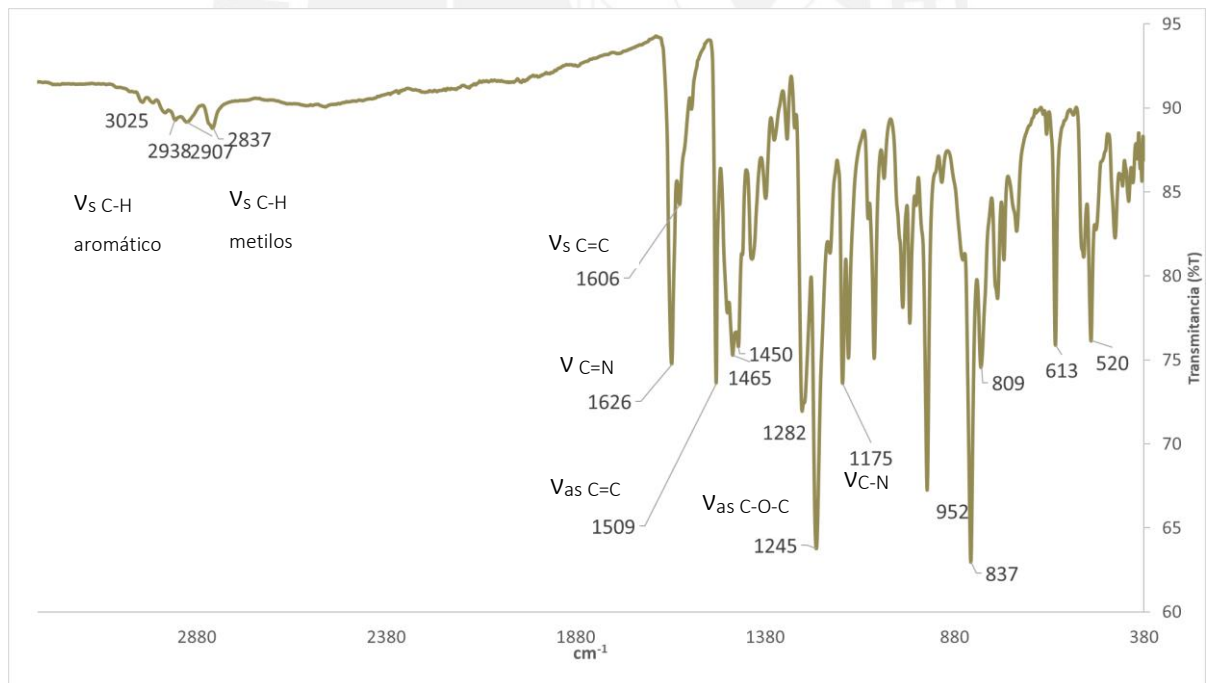


Figura 35: Espectro FTIR de L₃

4.2.2.2 Espectroscopía de resonancia magnética nuclear

Las estructuras de los ligandos **L₂** y **L₃** y sus espectros por resonancia magnética nuclear ¹H-RMN se muestran en las **Figuras 36 y 37**. En este caso, la observación más importante, y aquella que confirma la formación del ligando, es la aparición de una señal a 8.34-8.42 ppm correspondiente a dos hidrógenos de la imina y la desaparición de la señal del hidrógeno del aldehído a 9.92-9.96 ppm en los espectros de los ligandos **L₂** y **L₃**.

Respecto a la región aromática, se puede notar que las señales no han sufrido grandes variaciones en su desplazamiento químico ni en sus constantes de acoplamiento, solo su integración se ha duplicado debido a la alta simetría que presentan los ligandos. Los protones en posiciones orto a los grupos donadores de electrones metoxi e hidroxilo siguen siendo los protones más protegidos, en comparación con los protones en posición meta. Sin embargo, en todas las señales aromáticas se observa un ligero desplazamiento hacia campos más altos, lo cual estaría asociado al menor efecto de desprotección que causa el grupo imino en comparación con el grupo carbonilo debido a la menor electronegatividad del nitrógeno.

Por otro lado, las nuevas señales a 2.18 y 3.77 ppm corresponden a los protones alifáticos introducidos por la 1,3 diaminopropano. En todos los casos, las multiplicidades de las señales quintuplete y triplete concuerdan con lo esperado.

La asignación completa de las señales aromáticas se logra mediante la relación entre sus constantes de acoplamiento (J). Dada las posiciones de los hidrógenos en el anillo bencénico se puede determinar los distintos acoplamientos del tipo orto y meta (6-10 y 1-3 Hz). La asignación de todas las señales en el caso de **L₂** puede comprobarse mediante el análisis del espectro bidimensional ¹H -¹H COSY, donde se observa una correlación entre los acoplamientos homonucleares de los protones (**Anexo IV**).

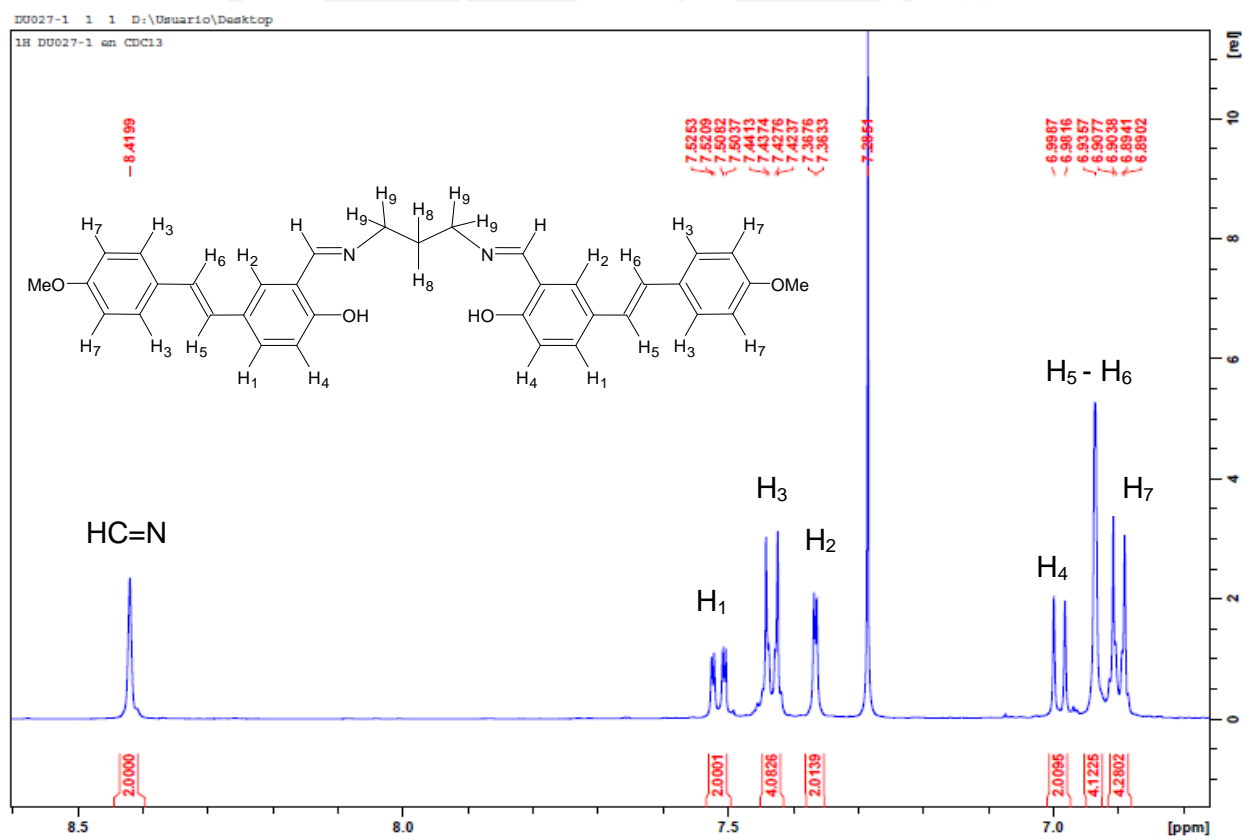
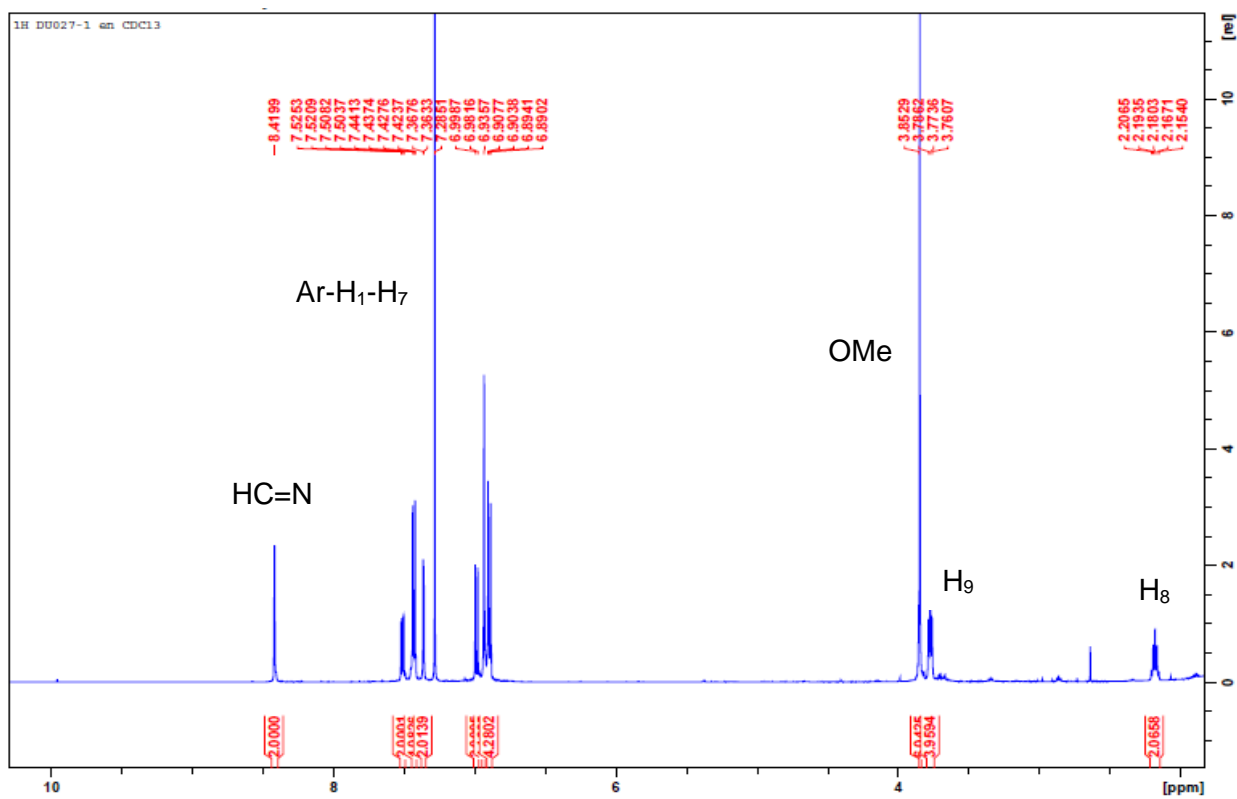


Figura 36: Espectros ^1H -RMN a 500 MHz de L_2 en CDCl_3

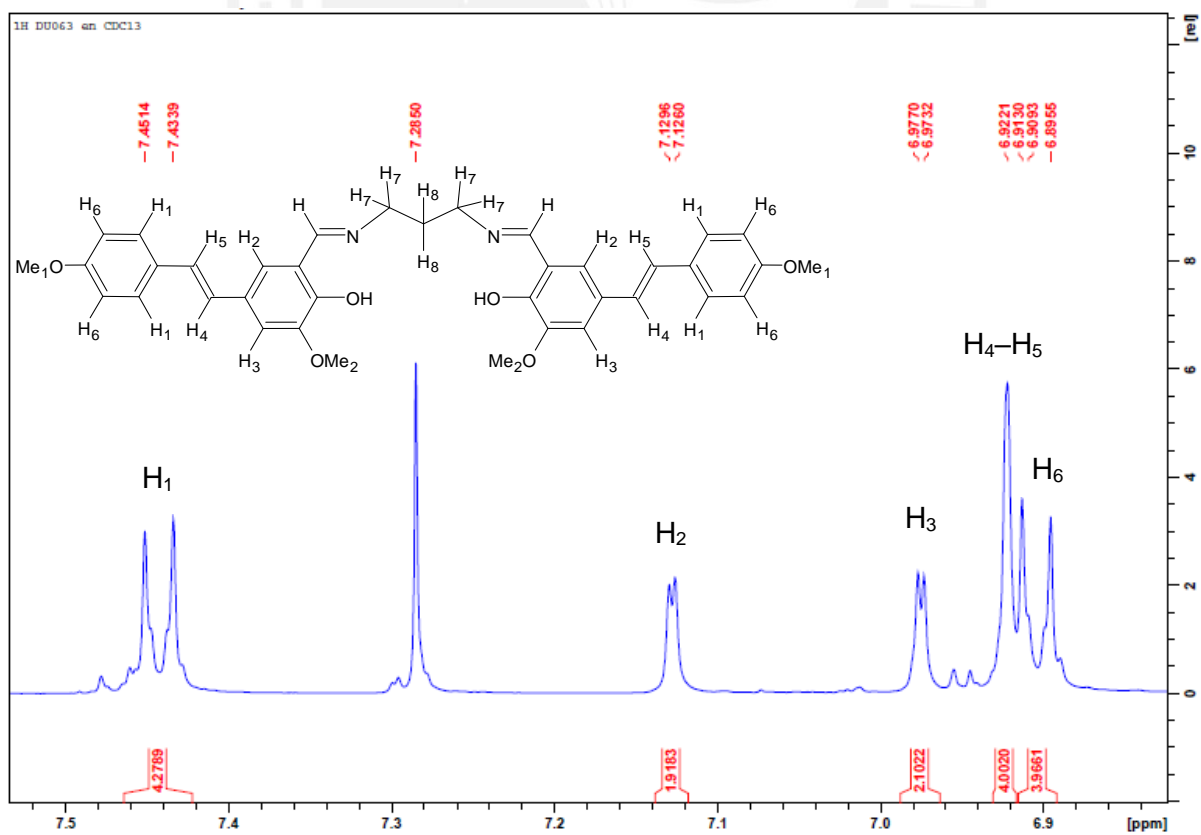
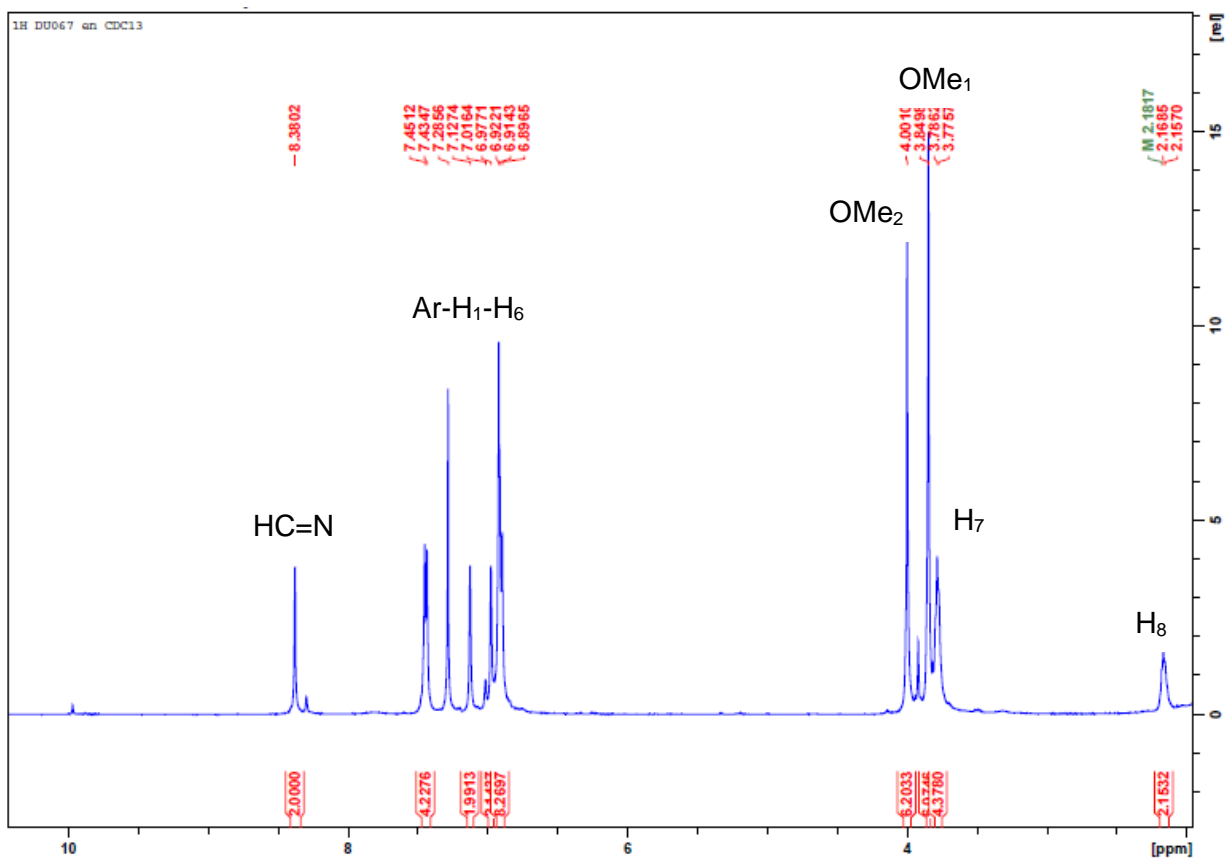


Figura 37: Espectros ¹H-RMN a 500 MHz de L₃ en CDCl₃

Por otro lado, en los espectros de ^{13}C -RMN de **L2** y **L3** (**Figuras 38** y **39**) se observan dieciséis y diecisiete señales, respectivamente, de las cuales aquellas que aparecen en el rango entre 111-160 ppm corresponden a los carbonos del anillo aromático. De este grupo de señales, se observan dos picos de mayor intensidad que integran por cuatro carbonos a 114.1 y 127.4 ppm (C_3 y C_7 de **L2**; C_1 y C_6 de **L3**) debido a la simetría que presenta la molécula. De igual forma que en el espectro de ^1H -RMN se puede distinguir que los carbonos en posiciones orto y para a los grupos metoxi e hidroxilo están más protegidos que los carbonos en posición. Asimismo, se tienen dos señales a 125.6 y 126.3 ppm que corresponden a los Csp^2 del alqueno.

Las señales que se encuentran en campos más altos estarían asociadas a los carbonos de los grupos metilo del metoxi (55.3 y 56.1 ppm) y a la cadena alifática (56.1-56.8 y 31.5 ppm). Finalmente, se observa la aparición de un pico a 165.5 ppm correspondiente a los carbonos desprotegidos de los grupos iminos y la desaparición de la señal del carbono del aldehído a 196 ppm, lo cual confirma la formación de los ligandos **L2** y **L3**.

La asignación completa de las señales del espectro de ^{13}C -RMN del ligando **L2** se realizó empleando la técnica bidimensional ^1H - ^{13}C HSQC que correlaciona los núcleos de carbono e hidrógeno separados por un enlace (**Anexo V**). De esta manera, fue posible asignar cada señal de carbono con su respectivo protón y distinguir las señales de carbonos cuaternarios (C_q) con aquellas que correlacionan con algún protón.

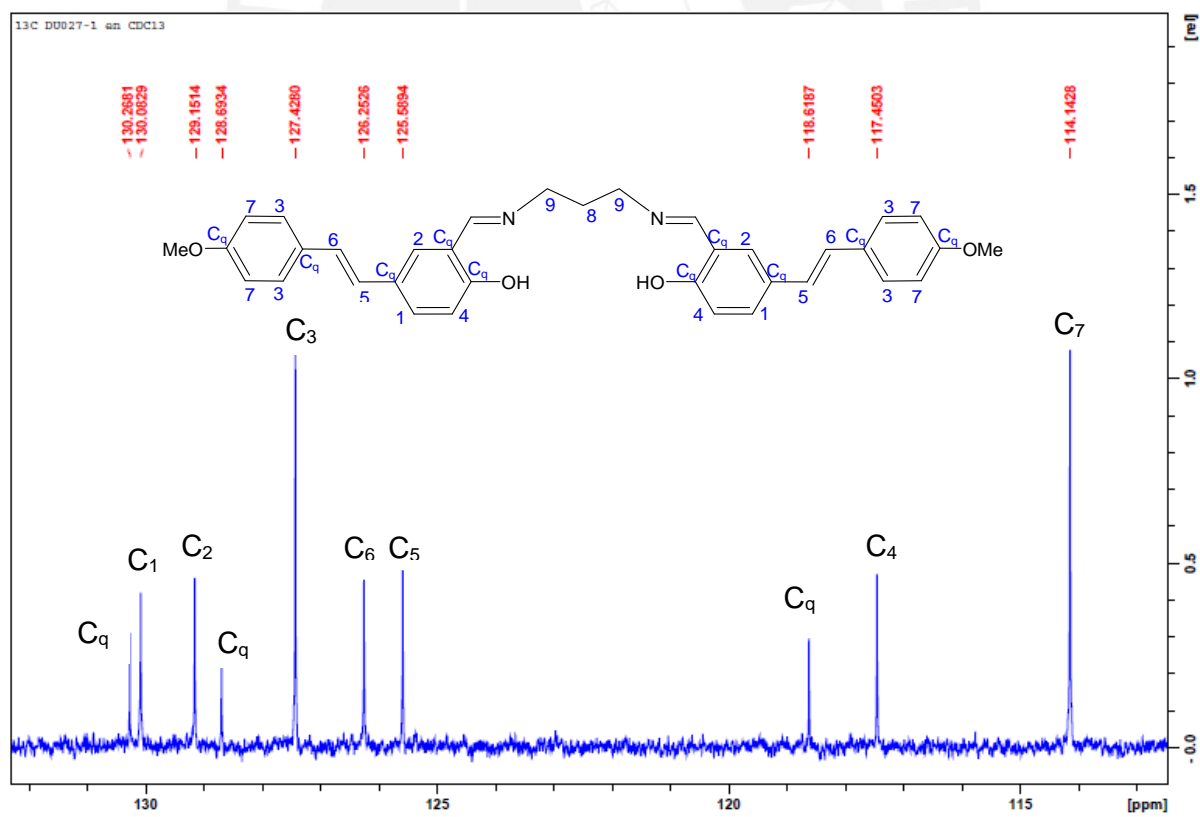
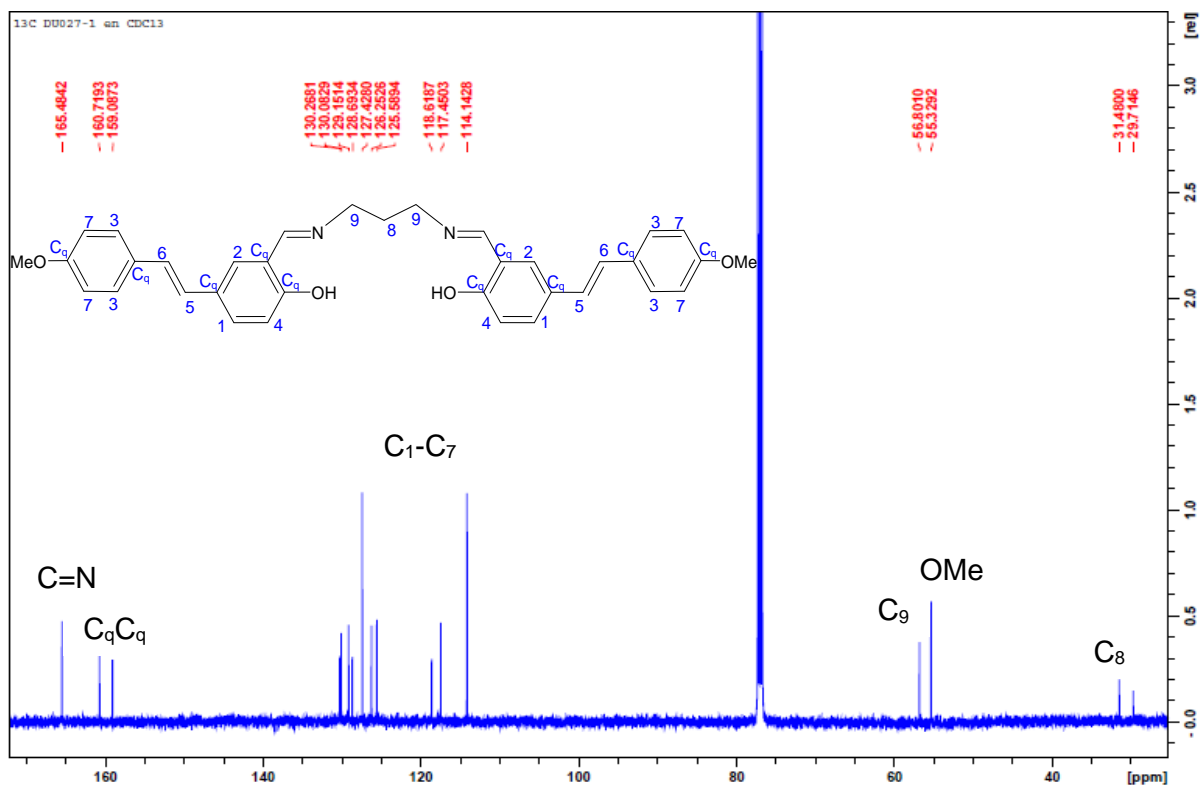


Figura 38: Espectros ¹³C-RMN a 125 MHz de **L₂** en CDCl₃

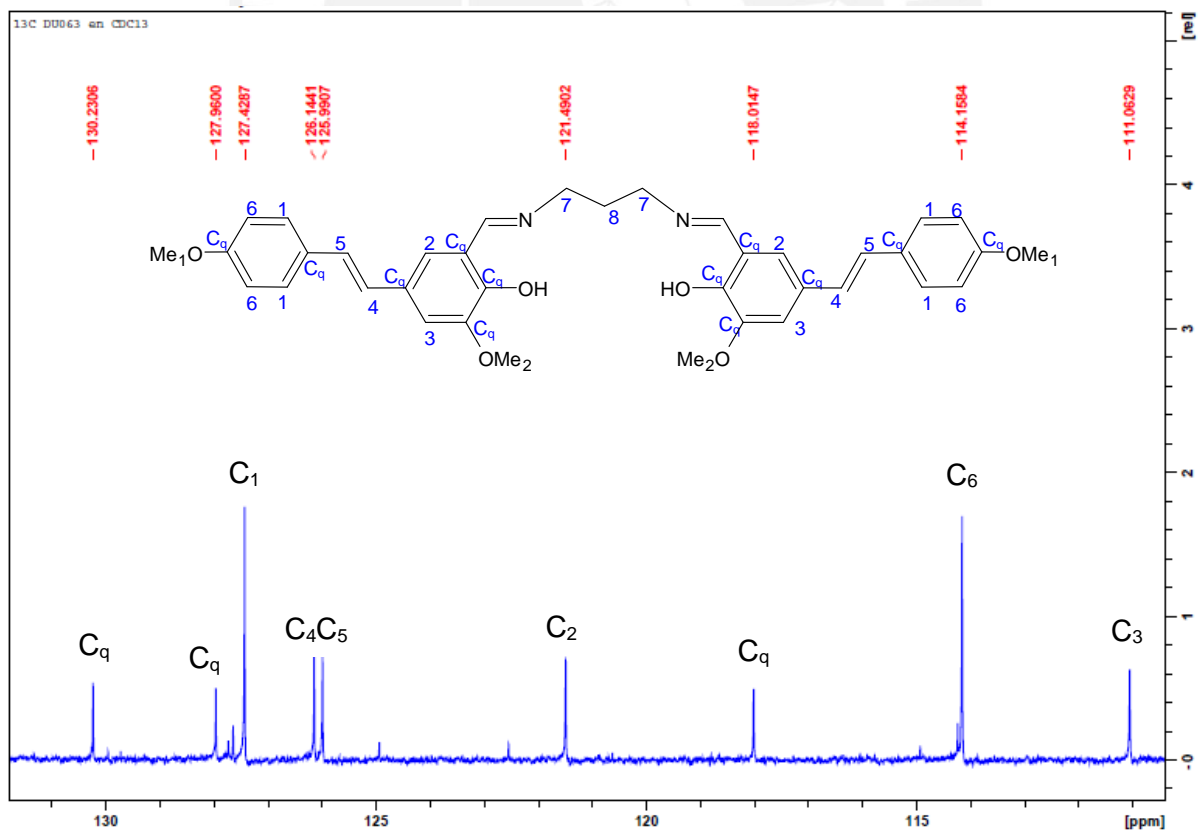
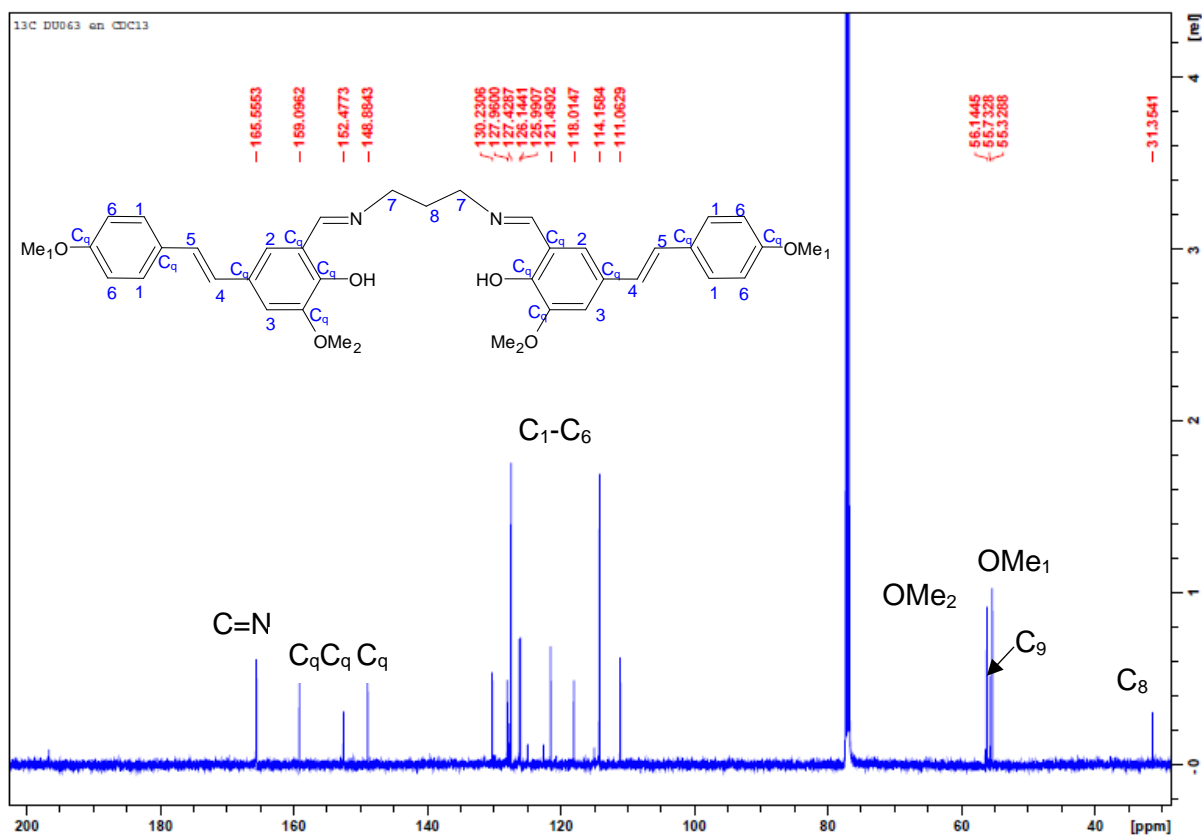


Figura 39: Espectros ^{13}C -RMN a 125 MHz de L_3 en $CDCl_3$

4.2.2.3 Espectrometría de masas de alta resolución (HRMS)

En las **Figuras 40** y **41** se muestran los espectros de espectrometría de masas de alta resolución (HRMS) mediante ionización por desorción de campo (FD, por sus siglas en inglés) de los ligandos **L₁** y **L₂**.

En el caso del ligando **L₁**, con fórmula molecular $^{12}\text{C}_{34}^{1}\text{H}_{32}^{14}\text{N}_2^{16}\text{O}_4$ y peso molecular de 532.2364 g/mol, presenta una señal intensa a 532.2374 m/z en modo positivo, que corresponde al ligando luego de haber perdido un electrón. Asimismo, la señal a 266.1172 m/z podría estar asociada con el ion molecular cargado dos veces ($[\text{M}]^{+2}$) o con el fragmento simétrico que queda luego de la ruptura del enlace alifático adyacente al grupo imina vía un mecanismo radicalario.

Por otro lado, se observa una señal relativamente intensa a 586.1569 m/z y una mucho menos intensa a 292.073 m/z que no estarían relacionadas a **L₁**. Debido a la baja solubilidad de este compuesto, inclusive en solventes como el DMSO, se sospecha que pueda estar coprecipitando con especies poliméricas, y que estas señales correspondan a un polímero cargado múltiples veces. No fue posible determinar la estructura de este compuesto debido a que se contaba solo con la información proporcionada por el HRMS.

En el caso del ligando **L₂**, con fórmula molecular $^{12}\text{C}_{35}^{1}\text{H}_{34}^{14}\text{N}_2^{16}\text{O}_4$ y peso molecular de 546.2520 g/mol, presenta únicamente una señal intensa a 546.2533 m/z en modo positivo, que corresponde al ligando luego de haber perdido un electrón, y, una señal a 273.1250 m/z que correspondería al ion molecular cargado dos veces ($[\text{M}]^{+2}$). De esta forma, la exactitud en el peso molecular y la alta intensidad del pico del ion molecular en comparación con otras señales confirma la identidad y la pureza del ligando **L₂**.

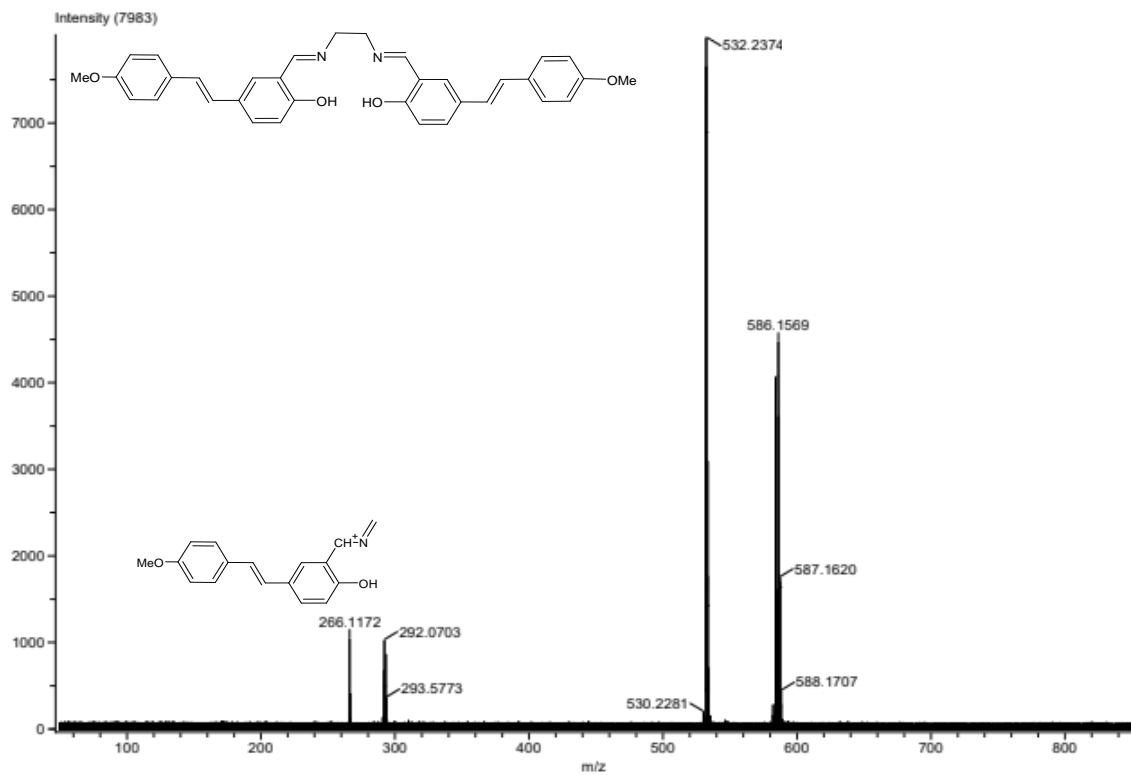


Figura 40: Espectro HRMS mediante ionización por FD en modo positivo de **L₁**

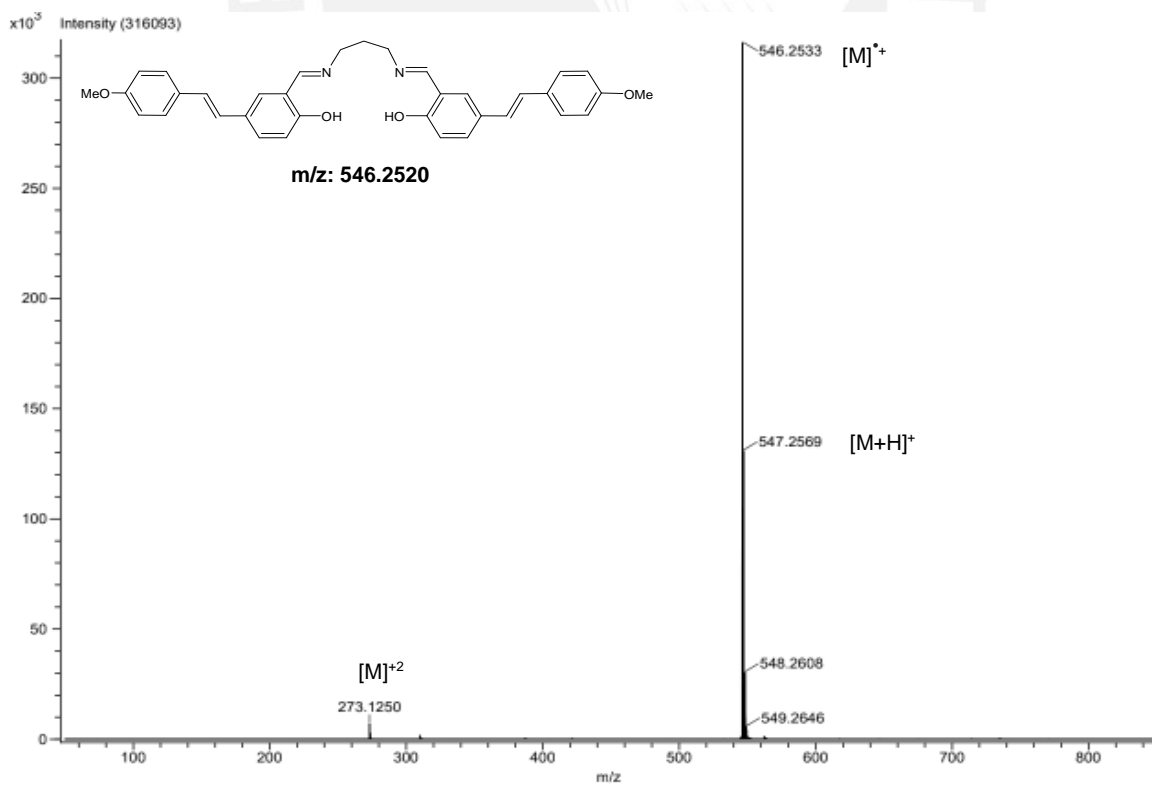


Figura 41: Espectro HRMS mediante ionización por FD en modo positivo de **L₂**

4.3 Síntesis y caracterización de CuL_{1-3}

La síntesis de los complejos de Cu(II) con ligandos tetradentados tipo base de Schiff N_2O_2 derivados de estilbena ocurre por la reacción entre los ligandos L_{1-3} con la sal de acetato de cobre (II) en etanol. Los átomos de hidrógeno presentes en los grupos hidroxilos de las bases de Schiff suelen ser ácidos y, usualmente, pueden ser removidos por los iones acetato como ocurrió en el caso del complejo CuL_3 .⁴⁵ No obstante, para la formación de los complejos de CuL_1 y CuL_2 se decidió agregar algunos equivalentes de LiOH , antes de añadir la sal de cobre (II), para favorecer la solubilidad del ligando y, de esta forma, facilitar la coordinación de los dos átomos de oxígeno al ion metálico. Este mismo procedimiento fue reportado por D. Gonzales para maximizar el rendimiento de la reacción.⁵⁴ Adicionalmente, se observó que para la reacción con el ligando L_1 la adición de la base favorecería a que la impureza se mantenga en solución y no precipite cuando se forme el complejo.

Asimismo, se pudo notar que la formación de los complejos ocurre casi de manera inmediata debido al efecto quelato del ligando tetradentado con átomos donadores σ (O y N) que permiten estabilizar la carga positiva del metal, aumentar la deslocalización electrónica π sobre el sistema de anillos conjugados y reducir la polaridad del ion Cu(II) lo que incrementaría la lipofiliidad del complejo a través de la BBB.⁴⁰

Además de realizar la síntesis de los complejos CuL_1 y CuL_2 a partir de sus respectivos ligandos, se probó una ruta alternativa en *one-pot* o *template*. Esta ruta consiste en partir del intermediario I_{1-2} y adicionar la diamina para la síntesis de los ligandos. Posteriormente, en el mismo balón de reacción, se agrega una solución de LiOH , solo en el caso de los ligandos L_1 y L_2 , y una solución de la sal de cobre que termina formando los complejos CuL_{1-3} .

Los beneficios de esta ruta alternativa se ven reflejados en el ahorro de tiempo, ya que no es necesario aislar los ligandos por filtración al vacío o evaporación a presión reducida, secarlos a vacío y disolverlos nuevamente para formar los complejos de cobre (II). Adicionalmente, los rendimientos de las reacciones en *one-pot* son superiores a los rendimientos obtenidos por la ruta convencional. En el caso de la síntesis del complejo de CuL_1 por la ruta convencional a partir del intermediario I_1 el rendimiento aproximado fue del 77%, mientras que por la ruta en *one-pot* el rendimiento fue del 88%. De la misma forma, el rendimiento por la ruta convencional para el complejo de CuL_2 fue del 68%, mientras que por la ruta en *one-pot* fue

del 80%. Asimismo, para demostrar que los productos obtenidos por ambos métodos eran los mismos se compararon sus espectros FTIR (**Anexo VI y VII**). De esta manera, se prueba que la síntesis por el método en *one-pot* permite obtener los mismos resultados que por el método convencional solo que con un mayor rendimiento y en un menor tiempo.

4.3.1 Caracterización de CuL₁₋₃

La caracterización de los complejos CuL₁₋₃ se realizó mediante espectroscopía infrarroja (FTIR), espectroscopía ultravioleta-visible (UV-vis) y espectrometría de masas de alta resolución (HRMS). Debido a que los complejos de cobre (II) son paramagnéticos no fue posible su caracterización por resonancia magnética nuclear (RMN).

4.3.1.1 Espectroscopía infrarroja

En los espectros FTIR de los complejos CuL₁₋₃ (**Figuras 42-44**) se observan las señales a 1626 y 1614 cm⁻¹ que corresponden a los estiramientos de los enlaces C=N de la imina enlazada al centro metálico de cobre. Estas bandas han sufrido un desplazamiento de 8-21 cm⁻¹ hacia menores números de onda en comparación con las señales de los estiramientos de los enlaces C=N de sus respectivos ligandos (**Anexos VIII-X**).

Este fenómeno se atribuye a la formación del compuesto de coordinación entre el ligando tetradentado tipo base de Schiff (N₂O₂) y el ion de cobre (II). La formación de los enlaces σ se da a través de los pares libres de electrones de dos grupos iminos e hidroxilos que permiten estabilizar la carga positiva del metal. Simultáneamente, para fortalecer el enlace metal-ligando el cobre (II) retrozona el exceso de densidad electrónica de sus orbitales d a los orbitales π^* del enlace C=N del ligando, lo cual se ve traducido en el debilitamiento del enlace C=N y en la disminución de su número de onda. Cabe destacar que este fenómeno de retrodonación π del metal ocurre en presencia de un ligando aceptor π ; es decir, un ligando que presente orbitales antienlazantes vacíos de baja energía (LUMO) que puedan traslapar de manera efectiva con los orbitales d llenos del metal (HOMO).

Por otro lado, en el caso de los estiramientos de los enlaces C-O-C asimétricos y simétricos de los complejos que aparecen a 1248-1246 y 1034-1030 cm⁻¹ no se observa un mayor cambio en

sus números de onda en comparación con sus ligandos. Esto se debe a que el enlace simple C-O al no poseer orbitales libres π^* no puede aceptar densidad electrónica de los orbitales d del metal y; por tanto, no ocurre la reducción en la fuerza de enlace C-O ni la disminución en el número de onda.

Por último, se observan todas las señales anteriormente identificadas para los ligandos como los estiramientos del enlace C-H del alqueno aromático, los estiramientos C-H de los metilos en los grupos alifáticos y los estiramientos simétricos y asimétricos de los enlaces C=C y C-O-C de los anillos aromáticos. De esta forma, se confirma que la estructura aromática de los ligandos no se ha visto alterada luego del complejamiento con el ion de cobre (II).



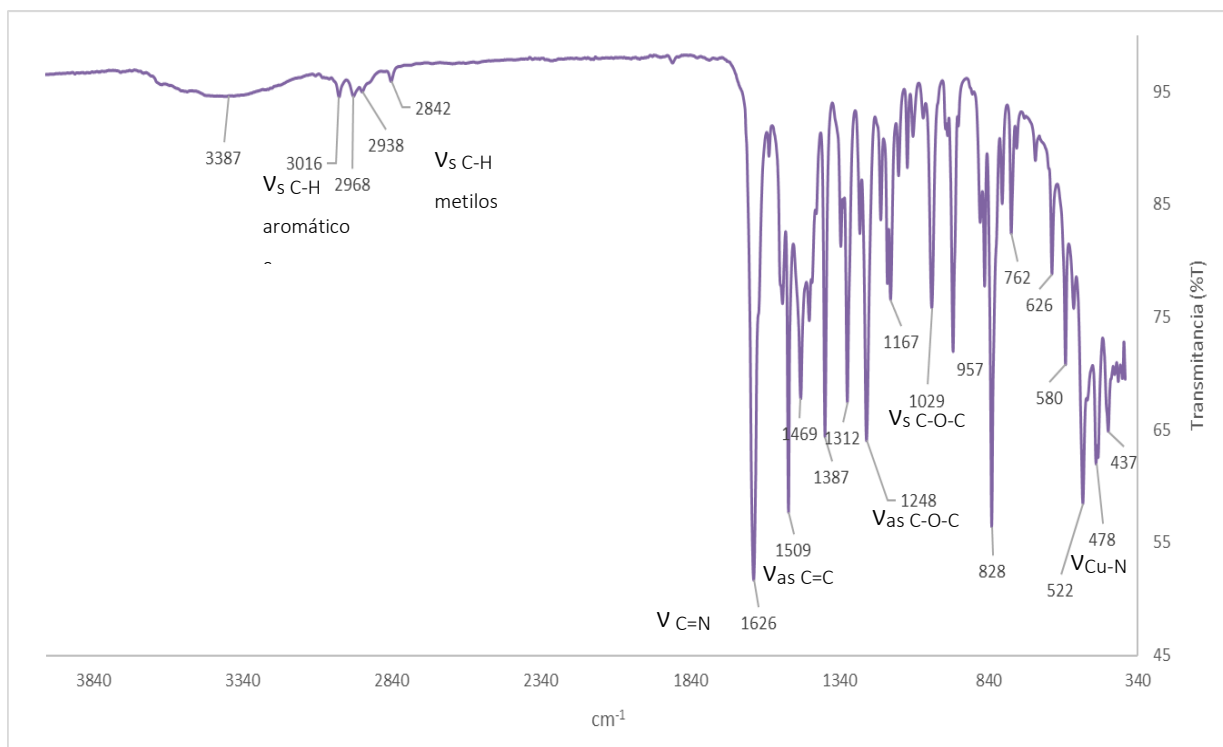


Figura 42: Espectro FTIR de CuL₁

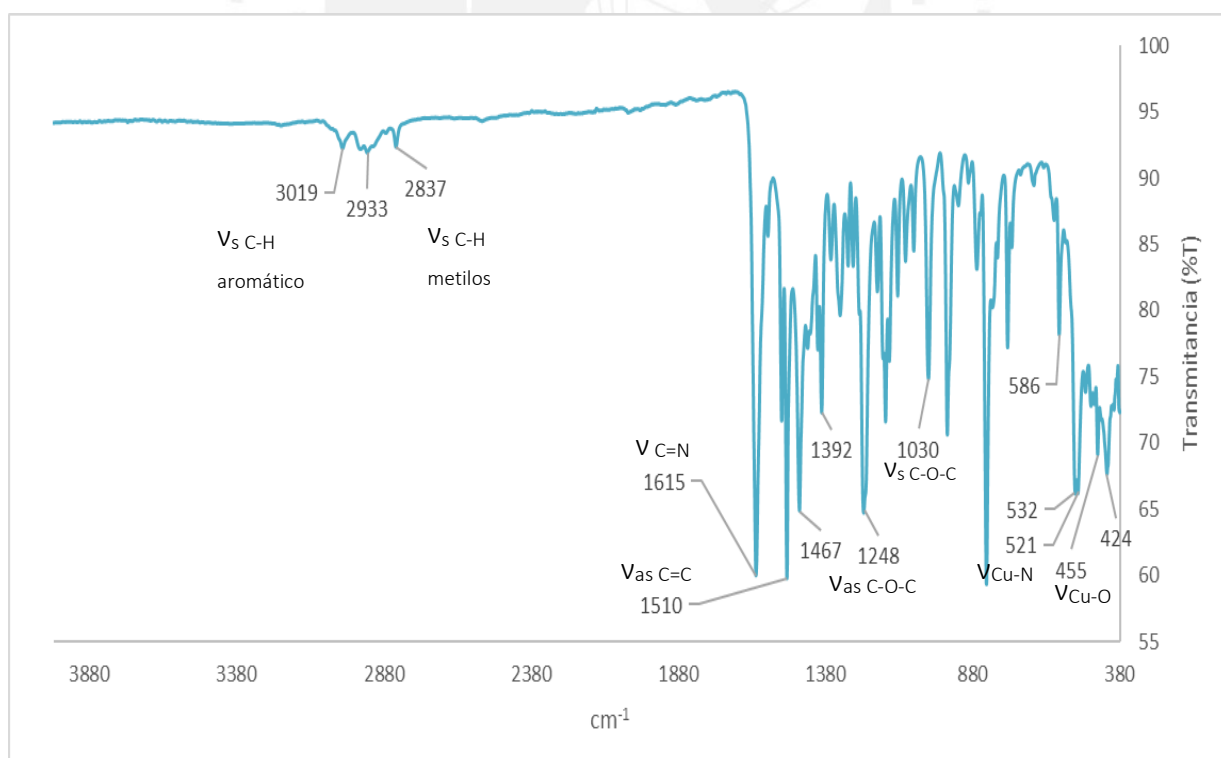


Figura 43: Espectro FTIR de CuL₂

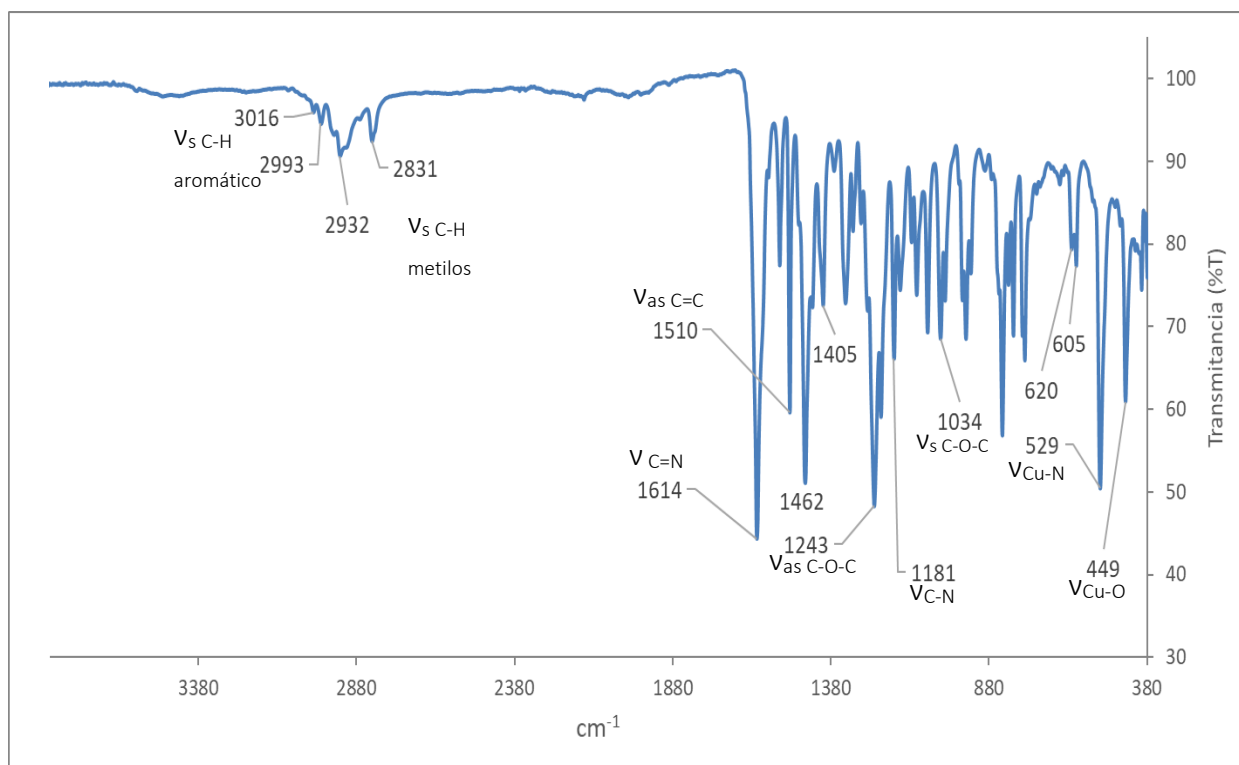
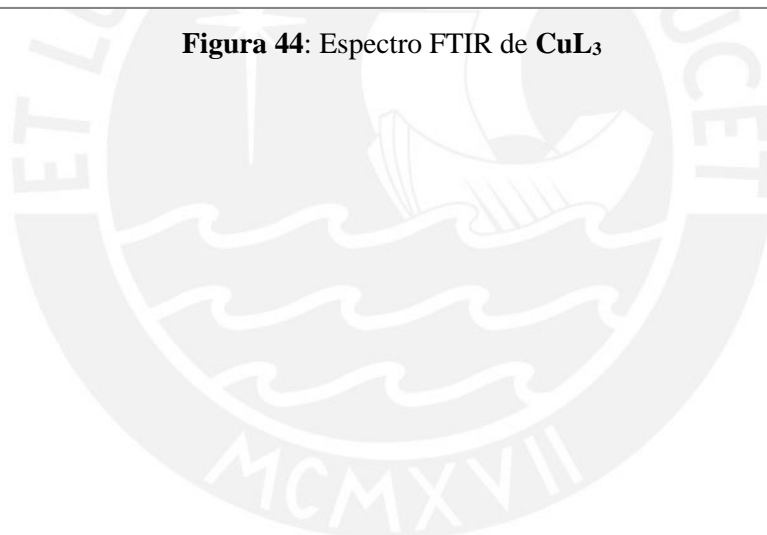


Figura 44: Espectro FTIR de CuL₃



4.3.1.2 Espectroscopía UV-vis

En las Figuras 45, 46 y 47 se observa la superposición de los espectros UV-vis de los ligandos y los complejos en metanol en el rango UV entre 200-400 nm. No fue posible analizar las absorciones en el rango visible debido a la poca solubilidad de los ligandos y los complejos en metanol.

En las tres figuras se puede apreciar un cambio significativo en el desplazamiento de las señales. En el caso del espectro de **L₁** y **CuL₁** se puede observar que la formación del complejo produce un ligero desplazamiento hipsocrómico del espectro del complejo, ya que la señal a 208 nm del ligando cambia a 205 nm en el complejo. Mientras que en el caso del espectro de **L₂** y **CuL₂** se aprecia un desplazamiento batocrómico del espectro del complejo debido a que las bandas más intensas del ligando a 204, 265 y 306 nm cambian a 207, 277 y 331 nm en el complejo.

Por último, en el caso del complejo **CuL₃** se puede distinguir el desdoblamiento de una de las bandas originales del ligando a 312 nm.. Las nuevas bandas a 283 y 329 nm presentes en el complejo podrían atribuirse a una banda de transferencia de carga del tipo $dM-\pi L^*$, mientras que las bandas entre 220-250 nm podrían corresponder a transiciones intra-ligandos.⁵⁵⁻⁵⁷

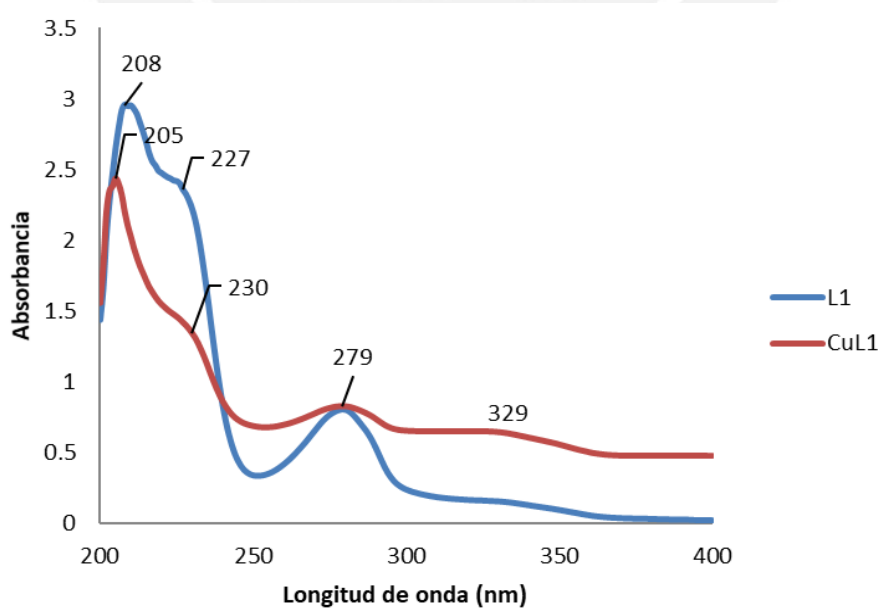


Figura 45: Superposición de los espectros UV-vis de **L₁** y **CuL₁** en MeOH

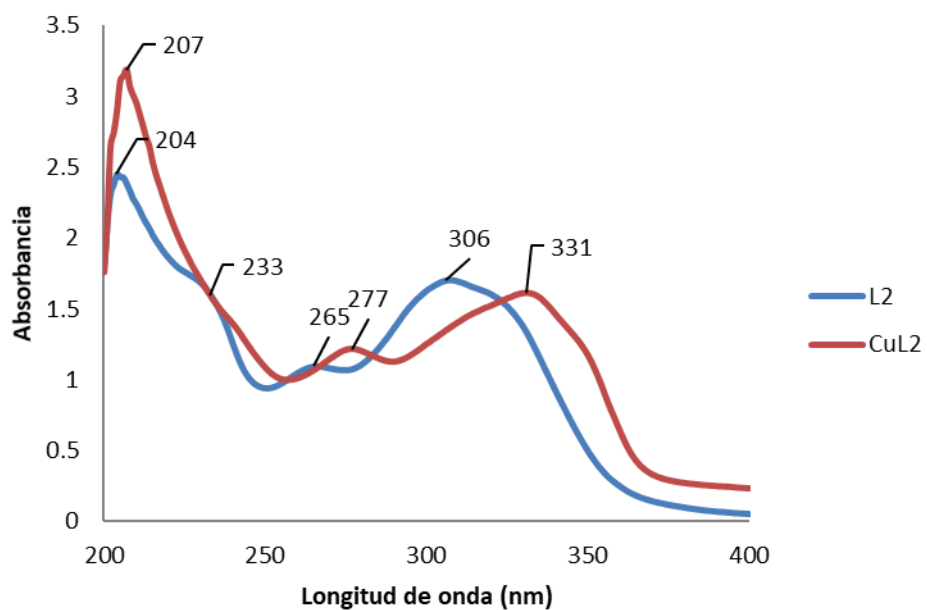


Figura 46: Superposición de los espectros UV-vis de L₂ y CuL₂ en MeOH

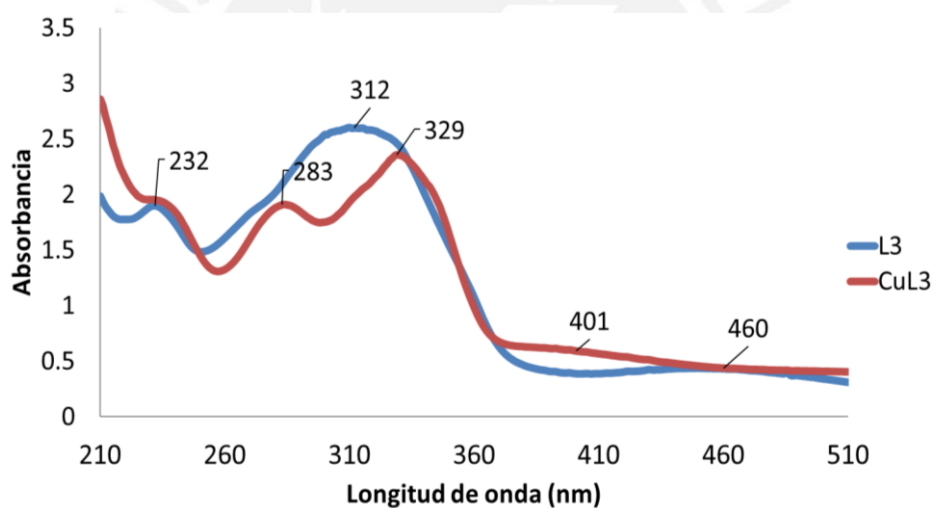


Figura 47: Superposición de los espectros UV-vis de L₃ y CuL₃ en MeOH

4.3.1.3 Espectrometría de masas de alta resolución (HRMS)

En las **Figuras 48, 49 y 50** se muestran los espectros de masas de alta resolución (HRMS) mediante ionización por desorción de campo (FD) de los complejos **CuL₁**, **CuL₂** y **CuL₃**.

En el caso del complejo **CuL₁**, con fórmula molecular $^{12}\text{C}_{34}^1\text{H}_{30}^{63}\text{Cu}^{14}\text{N}_2^{16}\text{O}_4$ y peso molecular de 593.1503 g/mol, presenta una señal intensa a 593.1504 m/z en modo positivo, que corresponde al complejo luego de haber perdido un electrón. La señal a 595.1500 m/z se debe a la formación del complejo de cobre-65 que es el segundo isótopo de cobre con mayor abundancia (30.85%), luego del cobre-63 con 69.15% de abundancia. Además, la señal a 296.5724 m/z podría estar asociada con el ion molecular cargado dos veces ($[\text{M}]^{+2}$), ya que coincide con la mitad del peso del ion molecular.

En el caso del complejo **CuL₂**, con fórmula molecular $^{12}\text{C}_{35}^1\text{H}_{32}^{63}\text{Cu}^{14}\text{N}_2^{16}\text{O}_4$ y peso molecular de 607.1660 g/mol, presenta una señal intensa a 607.1672 m/z en modo positivo, que corresponde al complejo luego de haber perdido un electrón. De igual forma que para el complejo **CuL₁**, la señal a 609.1666 m/z se debe a la formación del complejo de cobre-65. Adicionalmente, la señal a 303.5762 m/z podría deberse al ion molecular cargado dos veces ($[\text{M}]^{+2}$).

Por último, en el caso del complejo **CuL₃**, con fórmula molecular $^{12}\text{C}_{37}^1\text{H}_{36}^{63}\text{Cu}^{14}\text{N}_2^{16}\text{O}_6$ y peso molecular de 667.1869 g/mol, presenta una señal intensa a 668.1913 m/z en modo positivo, que corresponde al complejo luego de haber ganado un protón. Asimismo, la señal a 690.1746 m/z estaría asociada al complejo más el ion Na^+ . De igual forma que en los anteriores complejos, la señal a 669.1917 m/z se debe a la formación del complejo de cobre-65.

De esta manera, debido a la exactitud en el peso molecular y la alta intensidad de los picos de los iones moleculares se demuestra la identidad y la pureza de los complejos **CuL₁**, **CuL₂** y **CuL₃**.

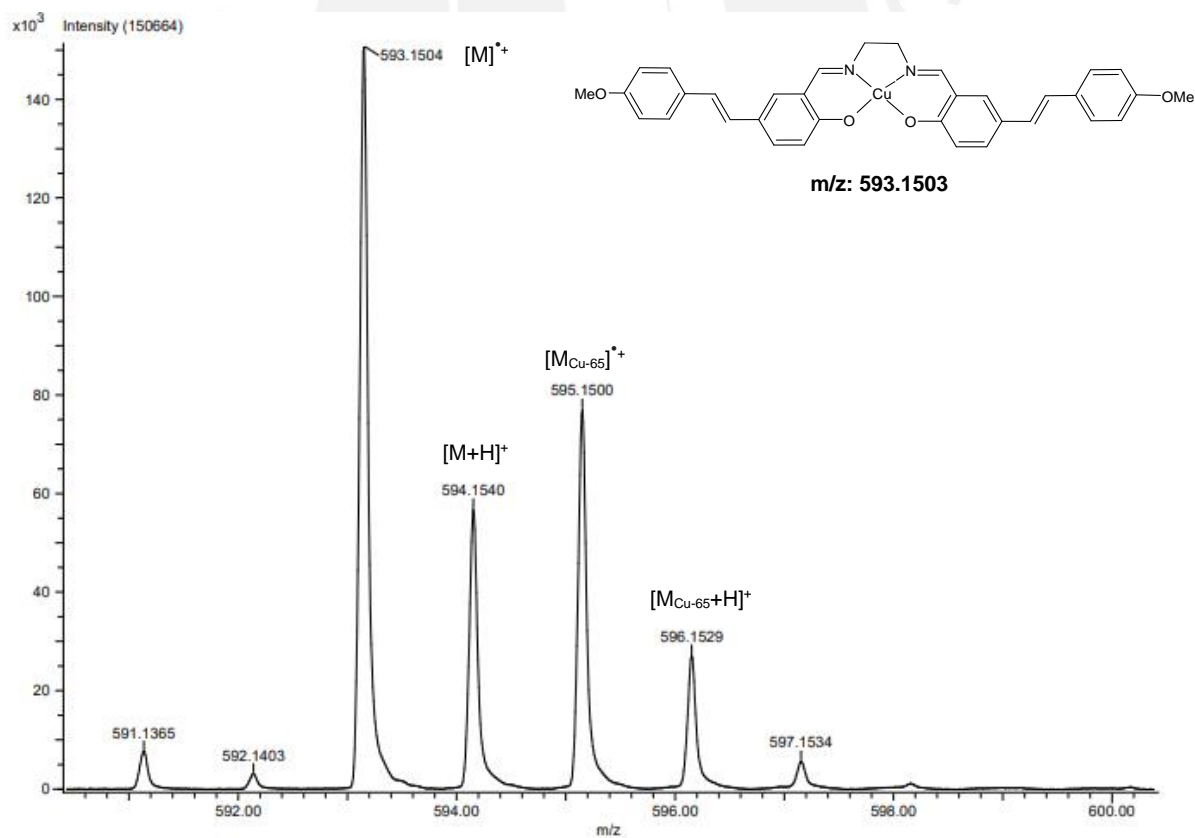
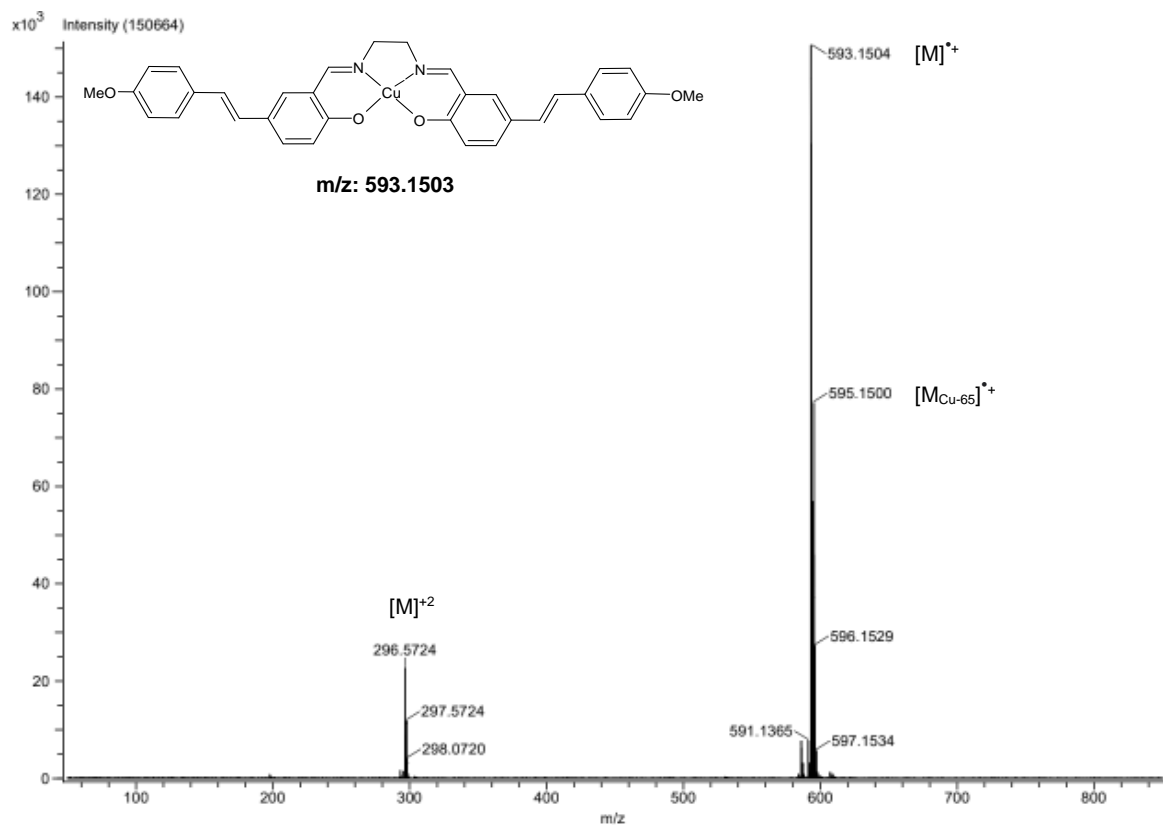


Figura 48: Espectro HRMS mediante ionización por FD en modo positivo de CuL_1

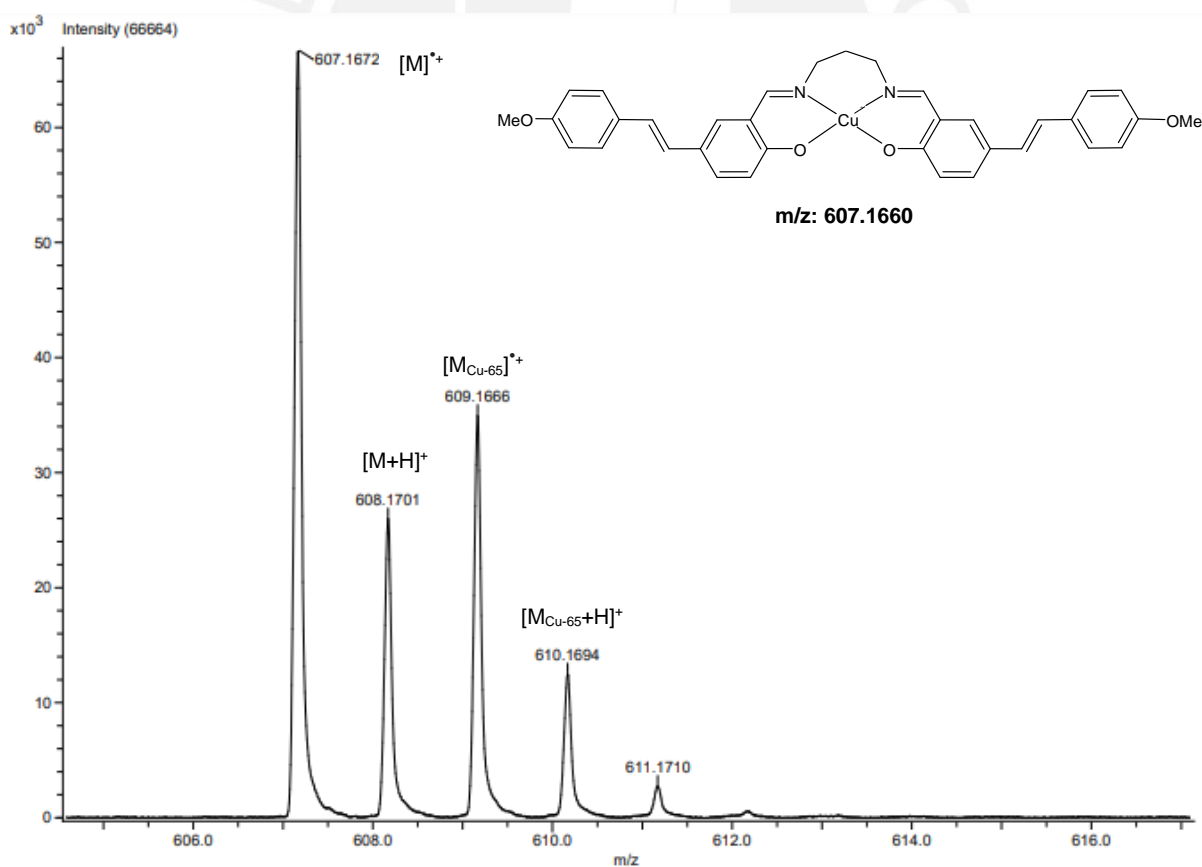
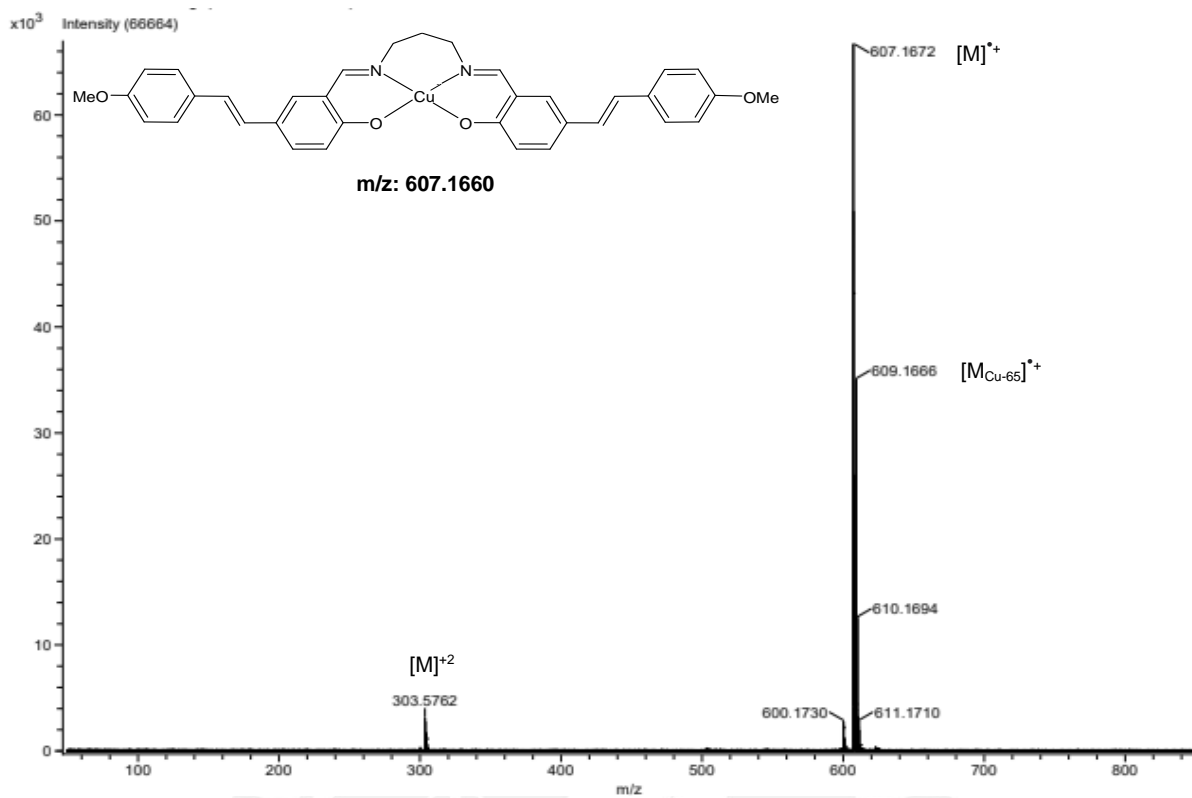


Figura 49: Espectro HRMS mediante ionización por FD en modo positivo de CuL_2

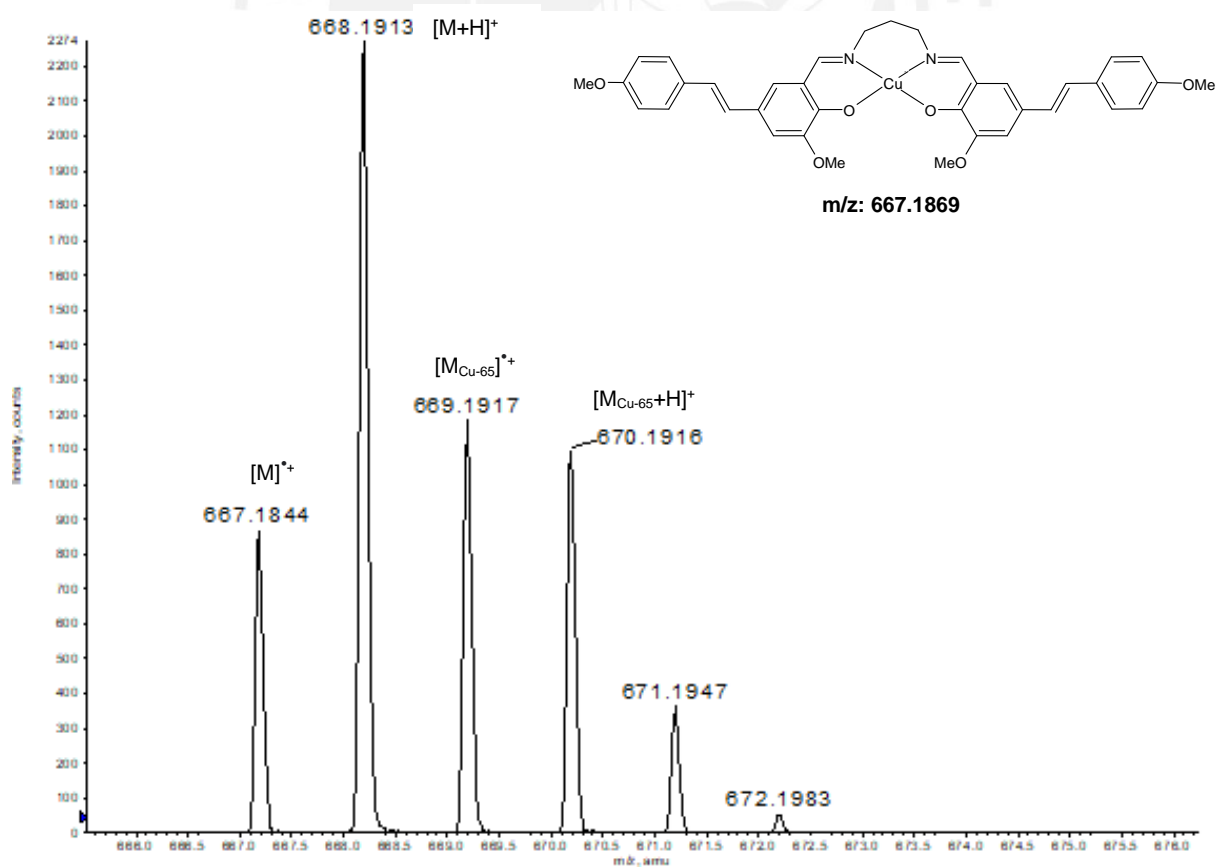
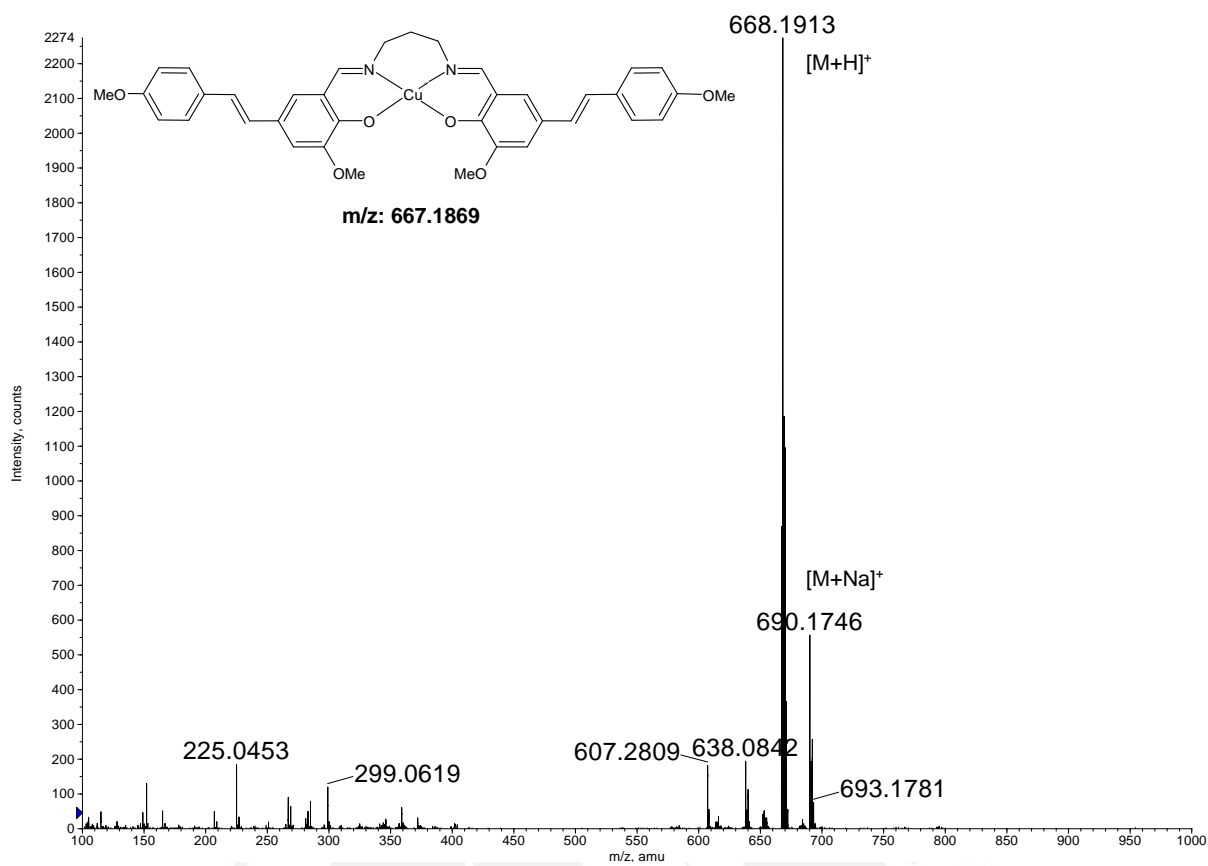


Figura 50: Espectro HRMS mediante ionización por FD en modo positivo de CuL_3

4.3.1.4 Difracción de rayos X (XRD)

Para el complejo CuL_2 , fue posible obtener cristales de dimensiones adecuadas para su estudio por difracción de rayos X de monocristal. En la **Figura 51** se muestra el diagrama ORTEP del complejo CuL_2 y en la Tabla 2 se muestran los datos cristalográficos más relevantes de este complejo. Este cristaliza en un sistema monoclinico, en un grupo espacial $C2/c$, y con un Z de 4. Los datos cristalográficos de adquisición adicionales se muestran en el **Anexo XI**.

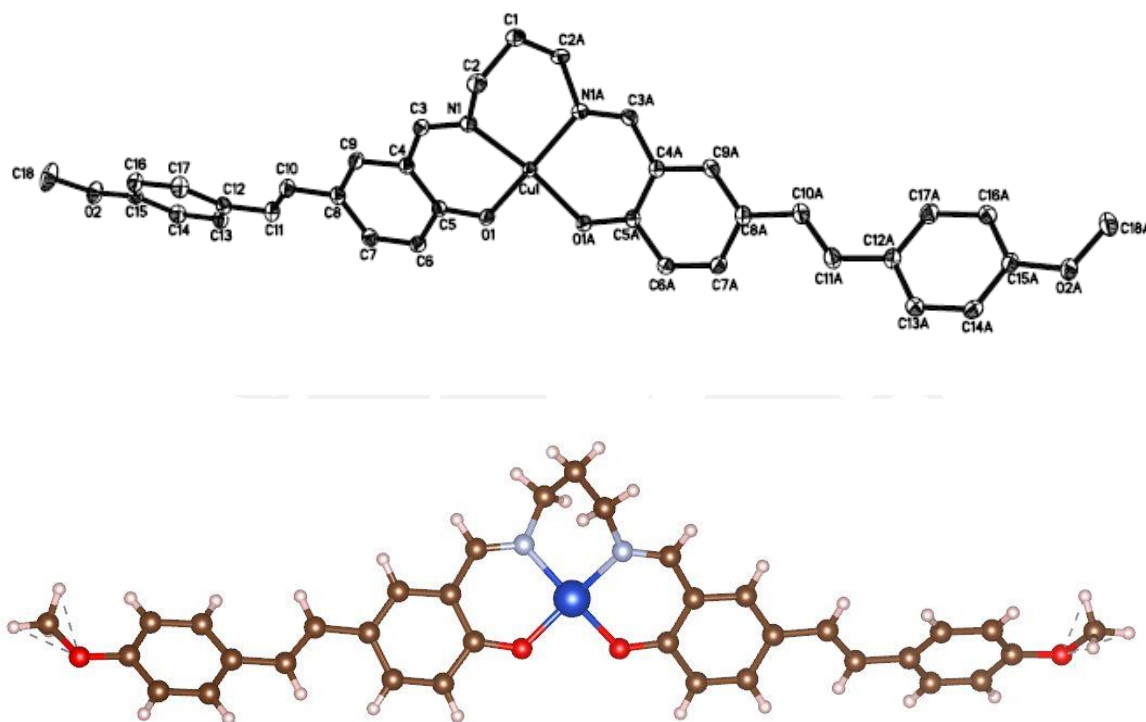


Figura 51: Representaciones ORTEP del complejo CuL_2

Tabla 2: Datos cristalográficos de **CuL₂**

	CuL₂
Fórmula empírica	C ₃₅ H ₃₂ CuN ₂ O ₄
Peso fórmula	608.16
Sistema cristalino	Monoclínico
Grupo espacial	C2/c
a/Å	15.3859(5) Å
b/Å	10.6357(3) Å
c/Å	17.4682(5) Å
α/(°)	90
β/(°)	96.3520(10)
γ/(°)	90
V/ Å ³	2840.94(15)
Z	4
Temperatura/K	173(2)
λ/Å	0.71073

Tal como era de esperarse, el átomo de cobre se encuentra tetracoordinado por los dos átomos de nitrógeno de los grupos imino y los dos átomos de oxígeno fenólico (esfera de coordinación N₂O₂), formando un sistema de anillos quelatos 6-6-6.

Las longitudes de enlace y ángulos de enlace más relevantes de **CuL₂** se encuentran listadas en la **Tabla 3**. Nuevamente, como era de esperarse por la simetría de la molécula, las distancias de enlace Cu-O con los dos oxígenos y Cu-N con los dos nitrógenos en la esfera de coordinación son idénticas (Cu-O: 1.9062 Å, Cu-N: 1.9562 Å). Ambas distancias se encuentran en el rango típico de los complejos de cobre.^{2,58} Asimismo, se observa que el enlace doble C=N del grupo imino se mantiene, mostrando una distancia de enlace de 1.2894 Å (N(1)-C(3)), mientras que en enlace de ese mismo N con el C vecino en la cadena alifática tiene una longitud de 1.4707 Å (N(1)-C(2)), lo esperado para enlaces dobles y simples C-N, respectivamente. Otras distancias de enlace significativas del complejo se muestran en el **Anexo XII**.

Tabla 3: Principales longitudes y ángulos de enlace en el complejo **CuL₂**

Enlace	Longitud de enlace (Å)
Cu(1)-O(1)	1.9062(9)
Cu(1)-O(1)#1	1.9062(9)
Cu(1)-N(1)	1.9562(11)
Cu(1)-N(1)#1	1.9562(11)
N(1)-C(3)	1.2894(17)
N(1)-C(2)	1.4707(17)
Enlaces	Ángulos de enlace (°)
O(1)-Cu(1)-O(1)#1	89.22(6)
O(1)-Cu(1)-N(1)	93.03(4)
O(1)#1-Cu(1)-N(1)	161.56(4)
O(1)-Cu(1)-N(1)#1	161.56(4)
O(1)#1-Cu(1)-N(1)#1	93.03(4)
N(1)-Cu(1)-N(1)#1	90.59(7)

Por otro lado, los ángulos de enlace en la molécula confirman que la geometría del complejo es cuadrado plana distorsionada. Los ángulos de los dos enlaces O-Cu-N son exactamente iguales, de 93.03(4)° cada uno; sin embargo, los ángulos de los enlaces O-Cu-O y N-Cu-N difieren. El ángulo del enlace O-Cu-O (89.22(6)°) es ligeramente menor que el ángulo de enlace N-Cu-N (90.59(7)°), esto a pesar de que el enlace N-Cu-N forma parte de un anillo de coordinación quelato mientras que el enlace O-Cu-O no forma parte de un anillo. Finalmente, otro ángulo que muestra la distorsión de la geometría cuadrado plana en la molécula es el ángulo del enlace O-Cu-N que es de 161.56(4)° cuando se esperaría que fuese de 180°. Otros ángulos de enlace relevantes del complejo se muestran en el **Anexo XIII**.

Aunque no fue posible obtener cristales de adecuada calidad de los complejos **CuL₁** y **CuL₃**, se presume que estos complejos tendrían la misma geometría y longitudes de enlace análogas que el complejo **CuL₂** debido a la similitud en los procesos de síntesis.

5 CONCLUSIONES

- Se lograron sintetizar y caracterizar los intermediarios **I₁** e **I₂**, producto del acoplamiento de Heck en *one-pot*. Estos productos se obtuvieron con alta pureza luego de una recristalización con un rendimiento del 41% y 35%, respectivamente.
- Se lograron sintetizar y caracterizar tres nuevos ligandos **L₁**, **L₂** y **L₃** a partir de los intermediarios **I₁** e **I₂** mediante una condensación con la etilendiamina y la 1,3-diaminopropano. Sin embargo, el ligando **L₁** no se logró obtener completamente puro, a diferencia de los ligandos **L₂** y **L₃**. Los ligandos fueron obtenidos con rendimientos de 81%, 79% y 60%.
- Se sintetizaron tres nuevos compuestos de coordinación de cobre (II) **CuL₁**, **CuL₂** y **CuL₃** con ligandos tipo base de Schiff que incorporan grupos estilbenos que pueden ser evaluados en un futuro por su capacidad como posibles agentes de radiodiagnóstico del Alzheimer por PET.
- Cuando los complejos **CuL₁**, **CuL₂** y **CuL₃** se prepararon por la ruta tradicional, se les obtuvo con rendimientos de 95%, 86% y 95%, respectivamente. La preparación de los mismo por la ruta alternativa *one-pot* reportó rendimientos de 88%, 80% y 95%, superando los rendimientos obtenidos por la ruta convencional y optimizando los tiempos de reacción.
- Se recomienda realizar algunos estudios adicionales como voltametría cíclica (CV), con el fin de analizar la reversibilidad de la reducción de las especies $\text{Cu}^{\text{II/I}}$, evaluar la estabilidad en solución de los complejos a pH fisiológico, probar su radiomarcado con cobre-64, estudiar su afinidad por las fibrillas $\text{A}\beta$ *in vitro* y su toxicidad en diferentes líneas celulares.

6 BIBLIOGRAFÍA

1. Liu, H., Qu, Y. & Wang, X. Amyloid β -targeted metal complexes for potential applications in Alzheimer's disease. *Future Med Chem* **10**, 697–701 (2018).
2. 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* **56**, 13801–13814 (2017).
3. Duthey, B. Background Paper 6.11 Alzheimer Disease and other Dementias, Update on 2004. *World Health Organization* 1–77 (2013).
4. Bhute, S. Sarmah, D., Datta, A., Rane, P., Shard, A., Goswami, A., Borah, A. Kalia, K., Dave, K. R. & Bhattacharya, P. Molecular Pathogenesis and Interventional Strategies for Alzheimer's Disease: Promises and Pitfalls. *ACS Pharmacol Transl Sci* **3**, 472–488 (2020).
5. Mucke, L. Alzheimer's disease. *Nature* **461**, 895–897 (2009).
6. Physicians, P. C. 2020 Alzheimer's disease facts and figures. *Alzheimer's & Dementia* **16**, 391–460 (2020).
7. Alzheimer en Perú: más de 200 mil personas mayores de 60 años padecen enfermedad neurodegenerativa | Diario La República. <https://larepublica.pe/sociedad/2019/09/21/alzheimer-en-peru-mas-de-200-mil-personas-mayores-de-60-anos-padecen-enfermedad-neurodegenerativa/> (acceso Octubre 2019).
8. McKhann, G. M., Knopman, D. S., Chertkow, H., Hyman, B., Jack Jr, C., Kawas, C., Klunk, W., Koroshetz, W., Manly, J., Mayeux, R., Mohs, R., Morris, J., Rossor, M., Scheltens, P., Carrillo, M., Thies, B., Weintraub, S. & Phelps, C. The diagnosis of dementia due to Alzheimer's disease: Recommendations from the National Institute on Aging-Alzheimer's Association workgroups on diagnostic guidelines for Alzheimer's disease. *Alzheimer's & Dementia* **7**, 263–269 (2011).
9. Uehara, D. Radiofármacos en uso y en exploración para el diagnóstico de Alzheimer por tomografía de emisión de positrones (PET). Trabajo de Investigación de Bachillerato. (Pontifical Catholic University of Peru, 2020).
10. Perrin, R. J., Fagan, A. M. & Holtzman, D. M. Multimodal techniques for diagnosis and prognosis of Alzheimer's disease. *Nature* **461**, 916–922 (2009).
11. Perl, D. P. Neuropathology of Alzheimer's Disease. *Mount Sinai Journal of Medicine: A Journal of Translational and Personalized Medicine* **77**, 32–42 (2010).
12. Rauk, A. The chemistry of Alzheimer's disease. *Chem Soc Rev* **38**, 2698 (2009).
13. Bu, X.-L., Rao, P. P. N. & Wang, Y.-J. Anti-amyloid Aggregation Activity of Natural Compounds: Implications for Alzheimer's Drug Discovery. *Mol Neurobiol* **53**, 3565–3575 (2016).
14. Faller, P. & Hureau, C. Bioinorganic chemistry of copper and zinc ions coordinated to amyloid- β peptide. *Dalton Trans.* 1080–1094 (2009) doi:10.1039/B813398K.
15. Gilbert, B. J. The role of amyloid β in the pathogenesis of Alzheimer's disease. *J Clin Pathol* **66**, 362–366 (2013).

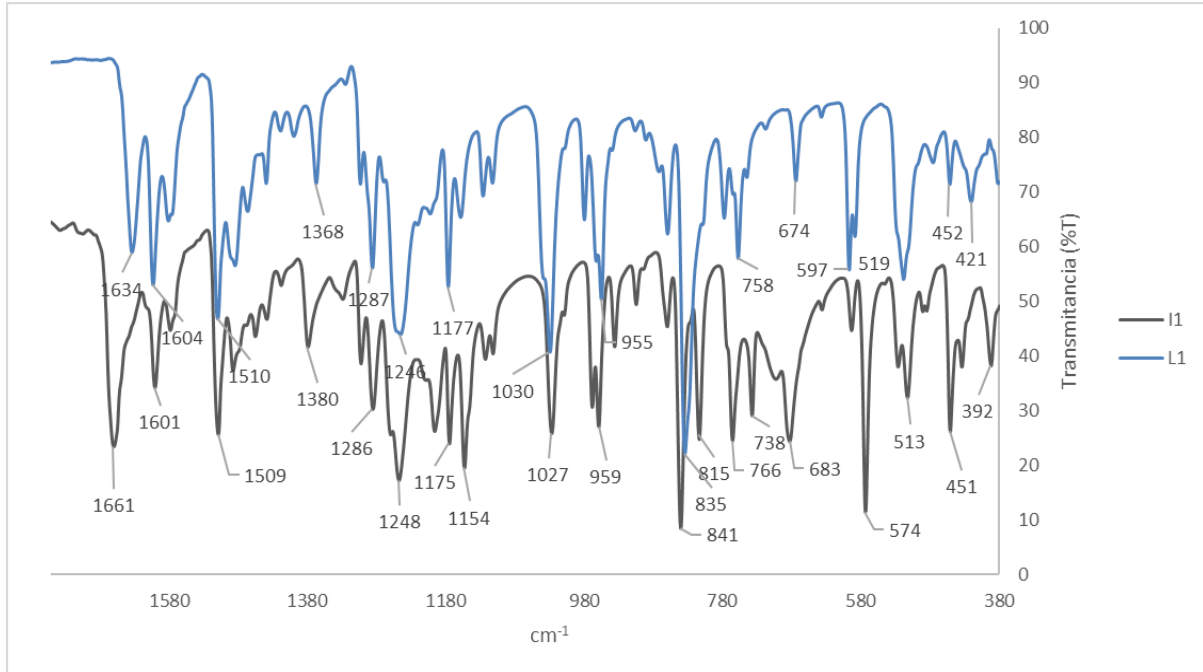
16. Luhrs, T. *et al.* 3D structure of Alzheimer's amyloid- (1-42) fibrils. *Proceedings of the National Academy of Sciences* **102**, 17342–17347 (2005).
17. Hureau, C. & Faller, P. Platinoid complexes to target monomeric disordered peptides: A forthcoming solution against amyloid diseases? *Dalton Transactions* **43**, 4233–4237 (2014).
18. Karran, E., Mercken, M. & Strooper, B. de. The amyloid cascade hypothesis for Alzheimer's disease: An appraisal for the development of therapeutics. *Nature Reviews Drug Discovery* **10**, 698–712 (2011).
19. Amiri, H., Saeidi, K., Borhani, P., Manafirad, A., Ghavami, M. & Zerbi, V. Alzheimer's Disease: Pathophysiology and Applications of Magnetic Nanoparticles as MRI Theranostic Agents. *ACS Chem Neurosci* **4**, 1417–1429 (2013).
20. Walker, K. A., Ficek, B. N. & Westbrook, R. Understanding the Role of Systemic Inflammation in Alzheimer's Disease. *ACS Chem Neurosci* **10**, 3340–3342 (2019).
21. Hernández, F. & Avila, J. Tauopathies. *Cellular and Molecular Life Sciences* **64**, 2219–2233 (2007).
22. Mietelska-Porowska, A., Wasik, U., Goras, M., Filipek, A. & Niewiadomska, G. Tau Protein Modifications and Interactions: Their Role in Function and Dysfunction. *Int J Mol Sci* **15**, 4671–4713 (2014).
23. Serrano-Pozo, A., Qian, J., Monsell, S., Blacker, D., Gómez-Isla, T., Betensky, R., Growdon, J., Johnson, K., Frosch, M., Sperling, R. & Hyman, B. Mild to moderate Alzheimer dementia with insufficient neuropathological changes. *Ann Neurol* **75**, 597–601 (2014).
24. Townsend, D. W. Physical principles and technology of clinical PET imaging. *Ann Acad Med Singap* **33**, 133–145 (2004).
25. Qaim, S. M., Bisinger, T., Hilgers, K., Nayak, D. & Coenen, H. H. Positron emission intensities in the decay of ⁶⁴Cu, ⁷⁶Br and ¹²⁴I. *Radiochim Acta* **95**, 67–73 (2007).
26. Kung, H. F., Choi, S. R., Qu, W., Zhang, W. & Skovronsky, D. 18 F Stilbenes and Styrylpyridines for PET Imaging of A β Plaques in Alzheimer's Disease: A Miniperspective. *J Med Chem* **53**, 933–941 (2010).
27. 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* **135**, 16120–16132 (2013).
28. Vlassenko, A. G., Benzinger, T. L. S. & Morris, J. C. PET amyloid-beta imaging in preclinical Alzheimer's disease. *Biochimica et Biophysica Acta - Molecular Basis of Disease* **1822**, 370–379 (2012).
29. Nordberg, A., Rinne, J. O., Kadir, A. & Lngström, B. The use of PET in Alzheimer disease. *Nature Reviews Neurology* vol. 6 78–87 Preprint at <https://doi.org/10.1038/nrneurol.2009.217> (2010).
30. Kung, H. F., Choi, S. R., Qu, W., Zhang, W. & Skovronsky, D. 18 F Stilbenes and Styrylpyridines for PET Imaging of A β Plaques in Alzheimer's Disease: A Miniperspective. *J Med Chem* **53**, 933–941 (2010).

31. Zhang, W., Kung, M.-P., Oya, S., Hou, C. & Kung, H. F. 18F-labeled styrylpyridines as PET agents for amyloid plaque imaging. *Nucl Med Biol* **34**, 89–97 (2007).
32. Zhang, W., Oya, S., Kung, M.-P., Hou, C., Maier, D. L. & Kung, H. F. F-18 Polyethyleneglycol stilbenes as PET imaging agents targeting A β aggregates in the brain. *Nucl Med Biol* **32**, 799–809 (2005).
33. Uzuegbunam, B. C., Librizzi, D. & Yousefi, B. H. PET radiopharmaceuticals for Alzheimer's disease and Parkinson's disease diagnosis, the current and future landscape. *Molecules* Feb 21;25(4):977. doi: 10.3390/molecules25040977. PMID: 32098280; PMCID: PMC7070523 (2020)..
34. Carroll, V., Demoin, D. W., Hoffman, T. J. & Jurisson, S. S. Inorganic chemistry in nuclear imaging and radiotherapy: Current and future directions. *Radiochim Acta* **100**, 653–667 (2012).
35. Lu, D., Chambers, P., Wipf, P., Xie, X-Q., Englert, D. & Weber, S. Lipophilicity screening of novel drug-like compounds and comparison to clogP. *J Chromatogr A* **1258**, 161–167 (2012).
36. Shokeen, M. & Anderson, C. J. Molecular Imaging of Cancer with Copper-64 Radiopharmaceuticals and Positron Emission Tomography (PET). *Acc Chem Res* **42**, 832–841 (2009).
37. Lim, S. Paterson, B. M., Fodero-Tavoletti, M. T., O'Keefe, G. J., Cappai, R., Barnham, K. J., Villemagne, V. L. & Donnelly, P. S. A copper radiopharmaceutical for diagnostic imaging of Alzheimer's disease: A bis(thiosemicarbazonato)copper(ii) complex that binds to amyloid- β plaques. *Chemical Communications* **46**, 5437–5439 (2010).
38. 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* **139**, 12550–12558 (2017).
39. Hayne, D. J., Lim, S. & Donnelly, P. S. Metal complexes designed to bind to amyloid- β for the diagnosis and treatment of Alzheimer's disease. *Chem Soc Rev* **43**, 6701–6715 (2014).
40. Omid, S. & Kakanejadifard, A. A review on biological activities of Schiff base, hydrazone, and oxime derivatives of curcumin. *RSC Adv* **10**, 30186–30202 (2020).
41. Lange, J. L., Hayne, D. J., Roselt, P., McLean, C. A., White, J. M. & Donnelly, P. S. A gallium(III) Schiff base-curcumin complex that binds to amyloid- β plaques. *J Inorg Biochem* **162**, 274–279 (2016).
42. Colbon, P., Barnard, J. H., Purdie, M., Mulholland, K., Kozhevnikov, I. & Xiao, J. Feeding the Heck reaction with alcohol: One-pot synthesis of stilbenes from aryl alcohols and bromides. *Adv Synth Catal* **354**, 1395–1400 (2012).
43. Tarlani, A., Riahi, A., Abedini, M., Amini, M. M. & Muzart, J. Wells–Dawson tungsten heteropolyacid-catalyzed reactions of benzylic alcohols, influence of the structure of the substrate. *J Mol Catal A Chem* **260**, 187–189 (2006).
44. Saiyed, A. S. & Bedekar, A. v. One-pot synthesis of stilbenes by dehydrohalogenation–Heck olefination and multicomponent Wittig–Heck reaction. *Tetrahedron Lett* **51**, 6227–6231 (2010).

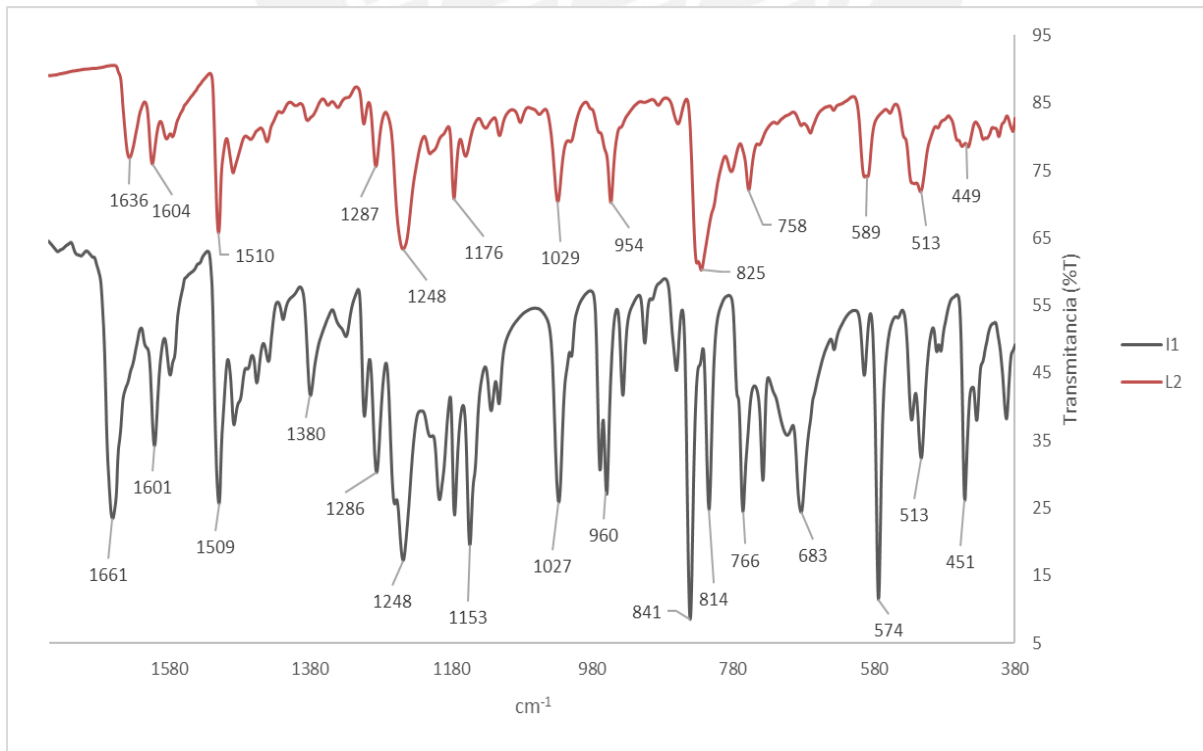
45. Mukherjee, P., Biswas, C., Drew, M. G. B. & Ghosh, A. Structural variations in Ni(II) complexes of salen type di-Schiff base ligands. *Polyhedron* **26**, 3121–3128 (2007).
46. Amirnasr, M., Schenk, K. J., Gorji, A. & Vafazadeh, R. *Synthesis and spectroscopic characterization of [Co^{III}(salophen)(amine)₂]ClO₄ (amine=morpholine, pyrrolidine, and piperidine) complexes. The crystal structures of [Co^{III}(salophen)(morpholine)₂]ClO₄ and [Co^{III}(salophen)(pyrrolidine)₂]ClO₄. *Polyhedron* **20**, 695-702 (2001).*
47. Mota, V. Z. Carvalho, G., Corbi, P., Bergamini, F., Formiga, A., Diniz, R., Freitas, M., da Silva, A. & Cuin, A. Crystal structure and theoretical studies of the keto-enol isomerism of N,N'-bis(salicylidene)-o-phenylenediamine (salophen). *Spectrochim Acta A Mol Biomol Spectrosc* **99**, 110–115 (2012).
48. Nathan, L. C. Koehne, J. E., Gilmore, J. M., Hannibal, K. A., Dewhirst, W. E. & Mai, T. D. The X-ray structures of a series of copper(II) complexes with tetradentate Schiff base ligands derived from salicylaldehyde and polymethylenediamines of varying chain length. *Polyhedron* **22**, 887–894 (2003).
49. Borisov, A. N., Shchukarev, A. v. & Shagisultanova, G. A. A new conducting polymer based on the complex of Cu(II) with N,N'-Bis(3-methoxysalicylidene)-1,3-propylenediamine. *Russian Journal of Applied Chemistry* **82**, 1242–1250 (2009).
50. Ruan, J., Saidi, O., Iggo, J. A. & Xiao, J. Direct acylation of aryl bromides with aldehydes by palladium catalysis. *J Am Chem Soc* **130**, 10510–10511 (2008).
51. Colbon, P., Ruan, J., Purdie, M. & Xiao, J. Direct acylation of aryl chlorides with aldehydes by palladium-pyrrolidine Co-catalysis. *Org Lett* **12**, 3670–3673 (2010).
52. Satoh, T., Itaya, T., Miura, M. & Nomura, M. Palladium-Catalyzed Coupling Reaction of Salicylaldehydes with Aryl Iodides *via* Cleavage of the Aldehyde C–H Bond. *Chem Lett* **25**, 823–824 (1996).
53. Silverstein, R., Webster, F. & Kiemle, D. *Silverstein-Spectrometric Identification of Organic Compounds 7th ed.* (John Wiley & Sons, Inc., 2005).
54. Gonzales, D. *Síntesis y caracterización de compuestos de coordinación de cobre con ligandos derivados*. Tesis de Licenciatura. (Pontifical Catholic University of Peru, 2021).
55. Maurya, M. R., Titinchi, S. J. J. & Chand, S. *Spectroscopic and catalytic activity study of N,N-bis(salicylidene)propane-1,3-diamine copper(II) encapsulated in zeolite-Y. Applied Catalysis A: General* **228**, 177-187 (2002).
56. Vijayaraj, A., Prabu, R., Suresh, R., Sivaraj, C., Raaman, N. & Narayanan, V. New acyclic Schiff-base copper(II) complexes and their electrochemical, catalytic, and antimicrobial studies. *J Coord Chem* **64**, 637–650 (2011).
57. Borisov, A. N., Shchukarev, A. v. & Shagisultanova, G. A. A new conducting polymer based on the complex of Cu(II) with N,N'-Bis(3-methoxysalicylidene)-1,3-propylenediamine. *Russian Journal of Applied Chemistry* **82**, 1242–1250 (2009).
58. Khusnutdinova, J. R., Luo, J., Rath, N. P. & Mirica, L. M. Late first-row transition metal complexes of a tetradentate pyridinophane ligand: Electronic properties and reactivity implications. *Inorg Chem* **52**, 3920–3932 (2013).

7 ANEXOS

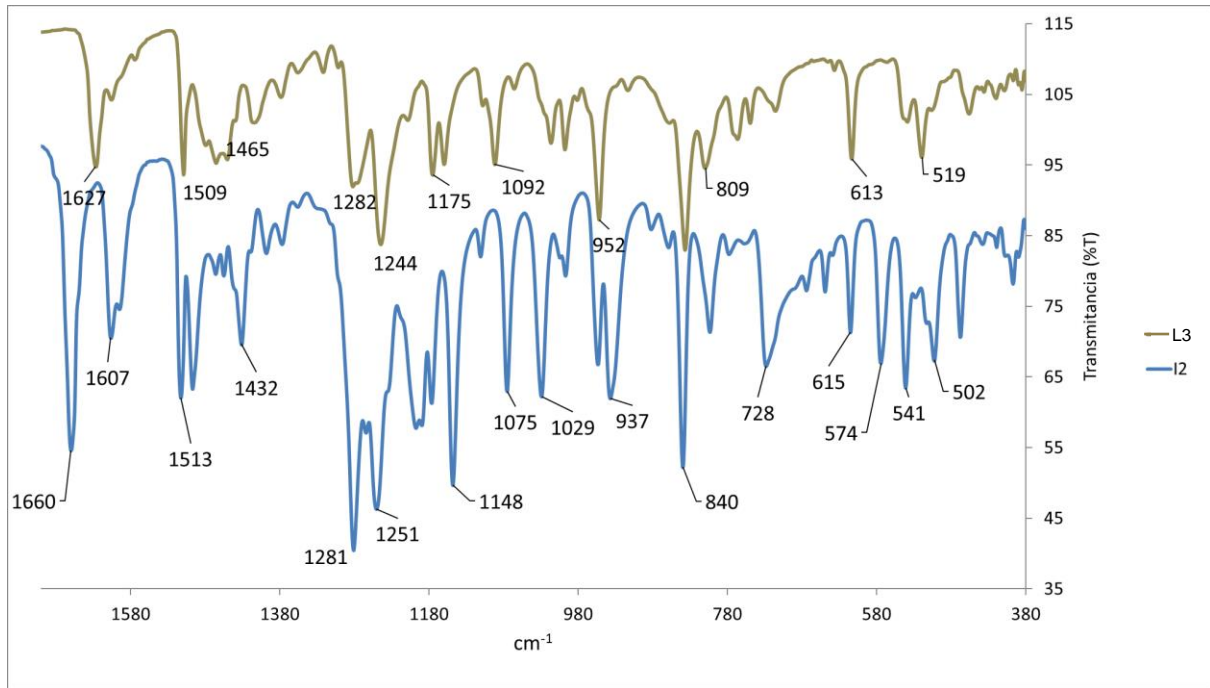
Anexo I: Superposición de los espectros FTIR de I₁ y L₁



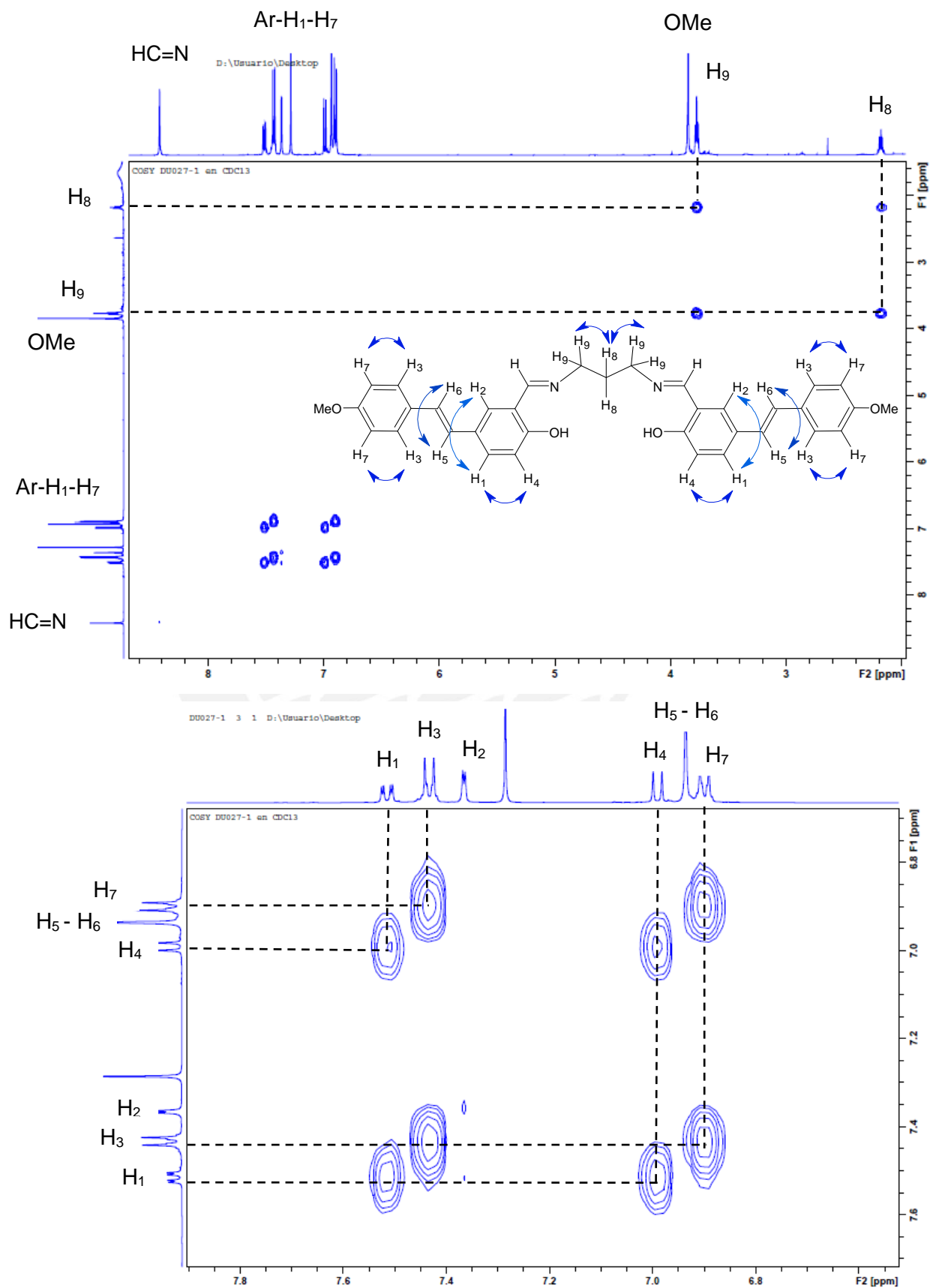
Anexo II: Superposición de los espectros FTIR de I₂ y L₂



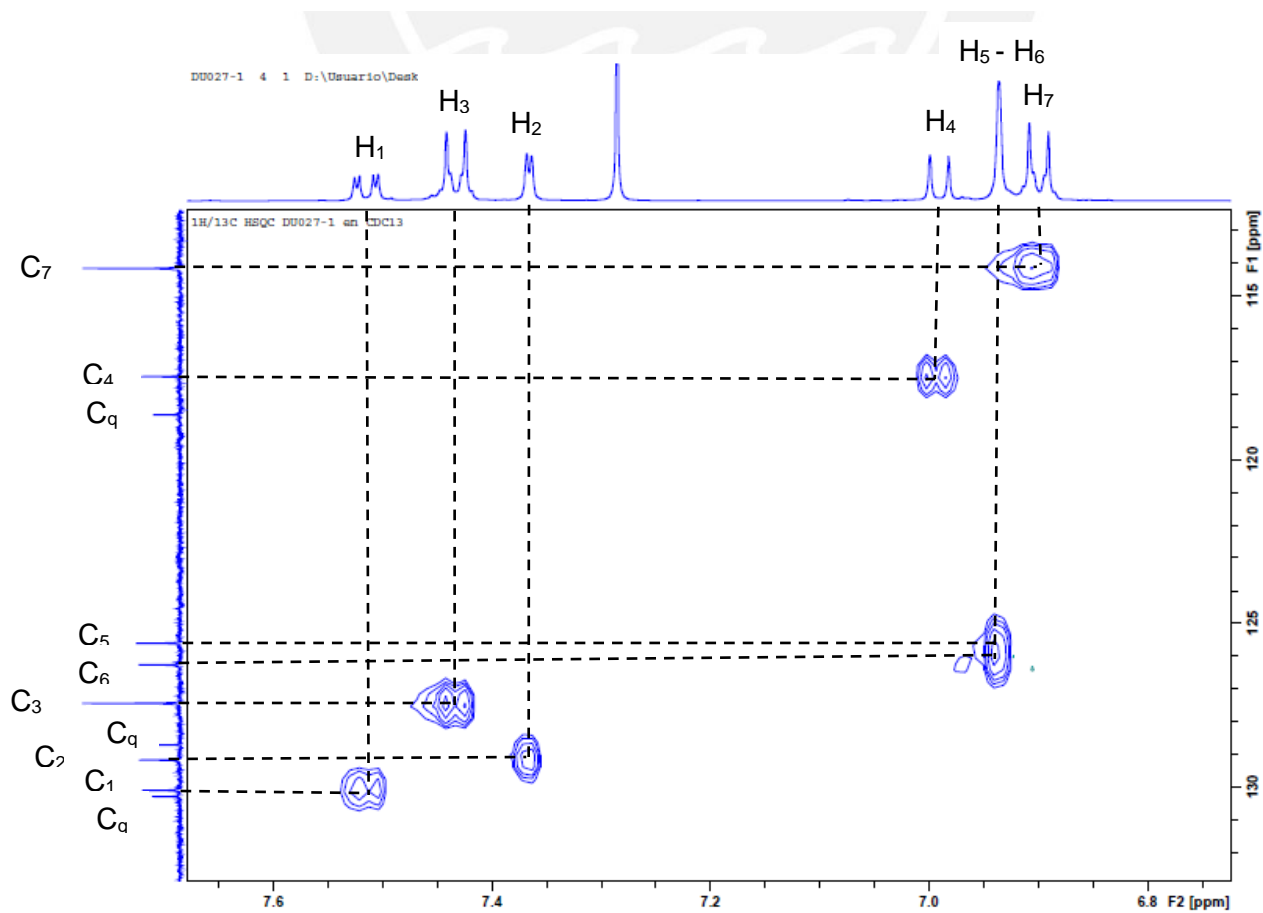
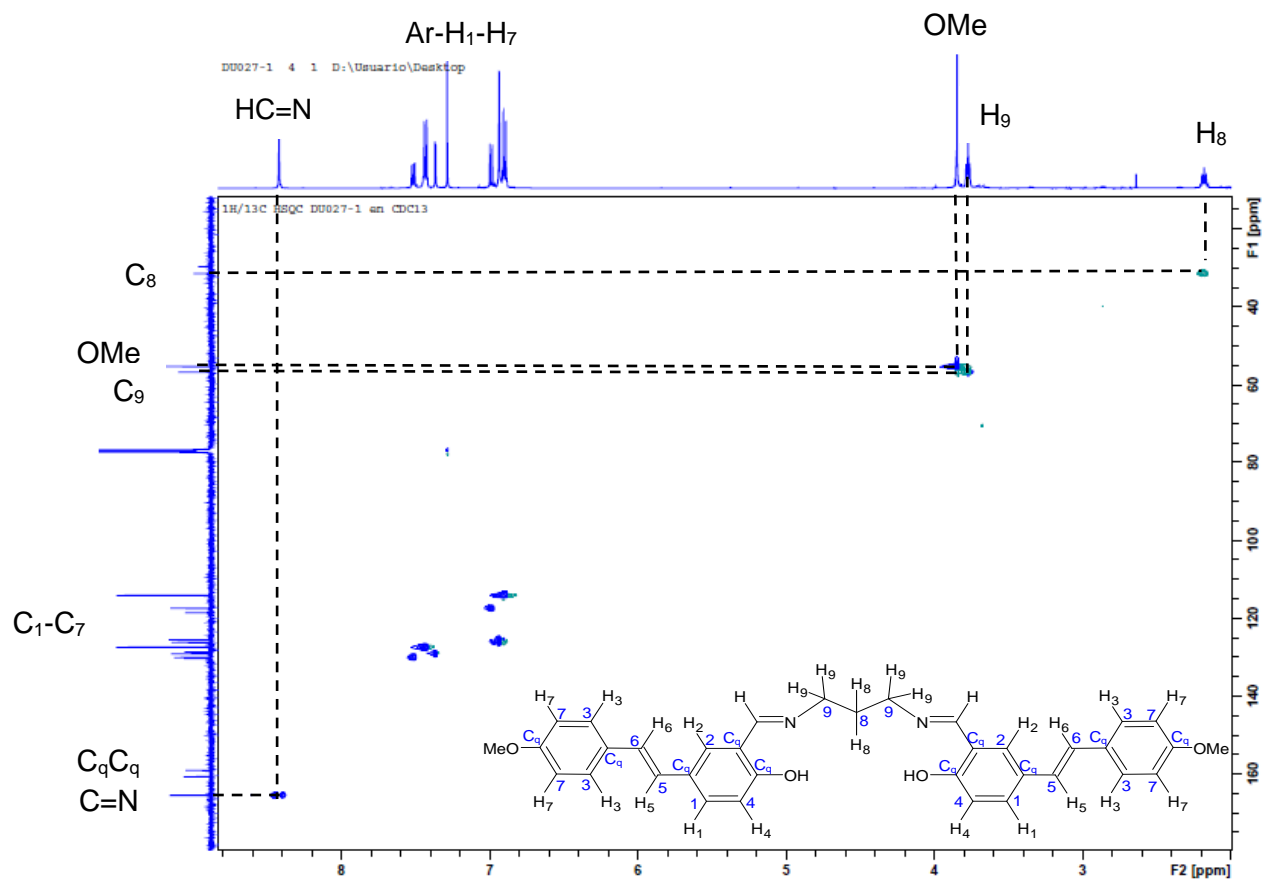
Anexo III: Superposición de los espectros FTIR de I₂ y L₃



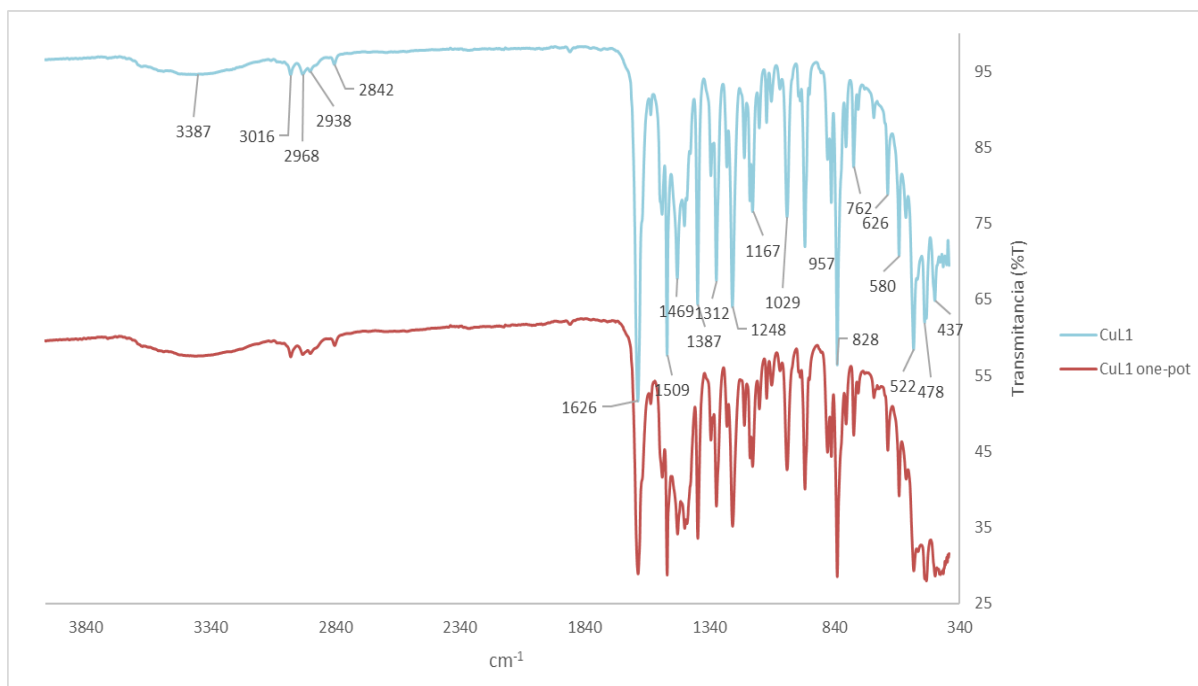
Anexo IV: Espectros de RMN ^1H - ^1H COSY de L_2 en CDCl_3



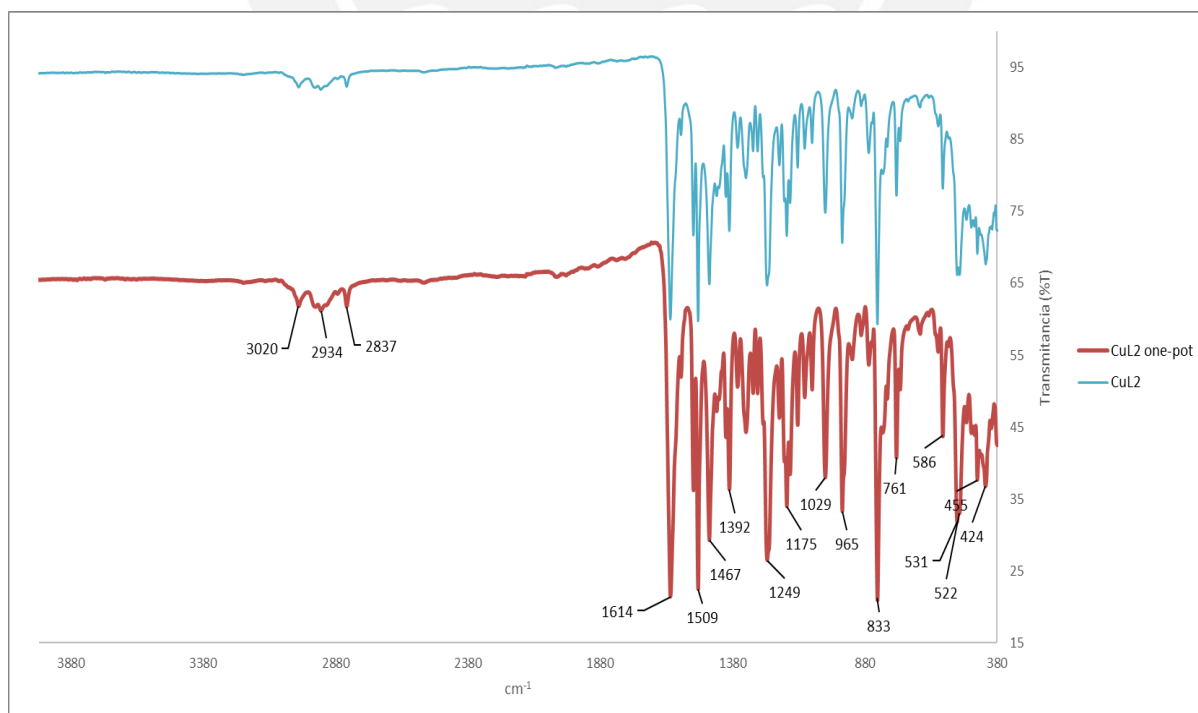
Anexo V: Espectros de RMN ^1H - ^{13}C HSQC de L_2 en CDCl_3



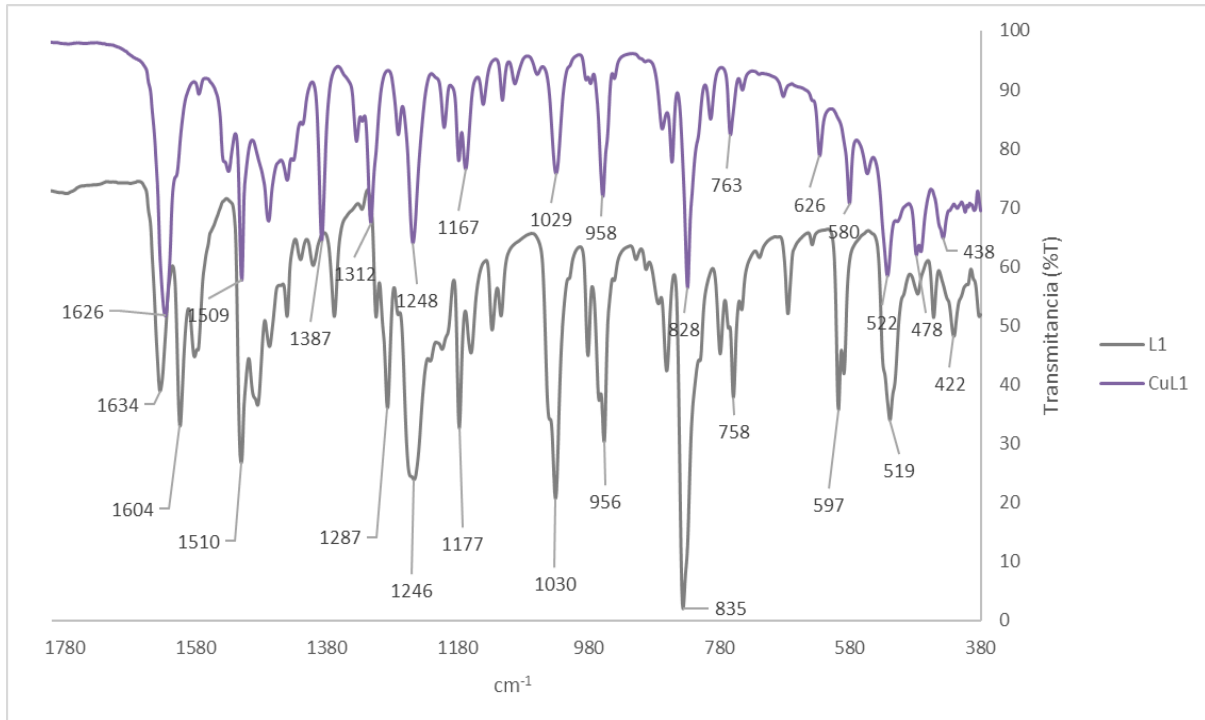
Anexo VI: Superposición de los espectros FTIR de los complejos CuL₁ sintetizados por la ruta convencional y en *one-pot*



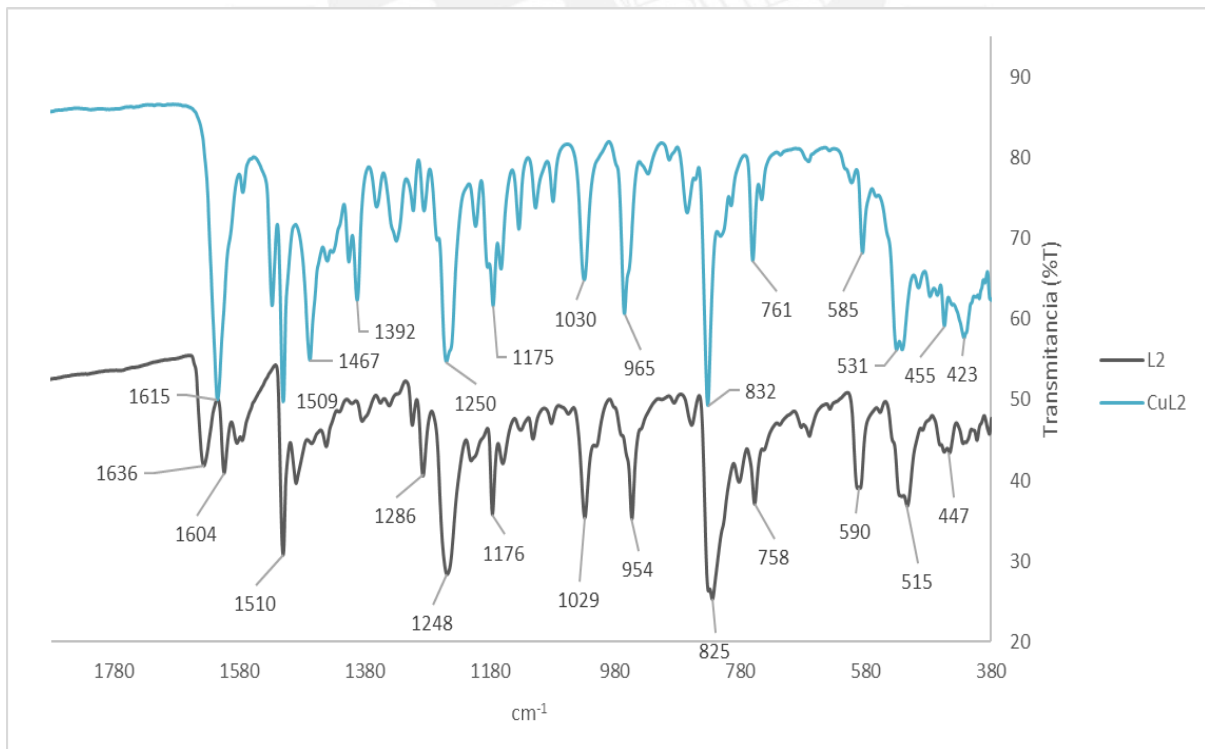
Anexo VII: Superposición de los espectros FTIR de los complejos CuL₂ sintetizados por la ruta convencional y en *one-pot*



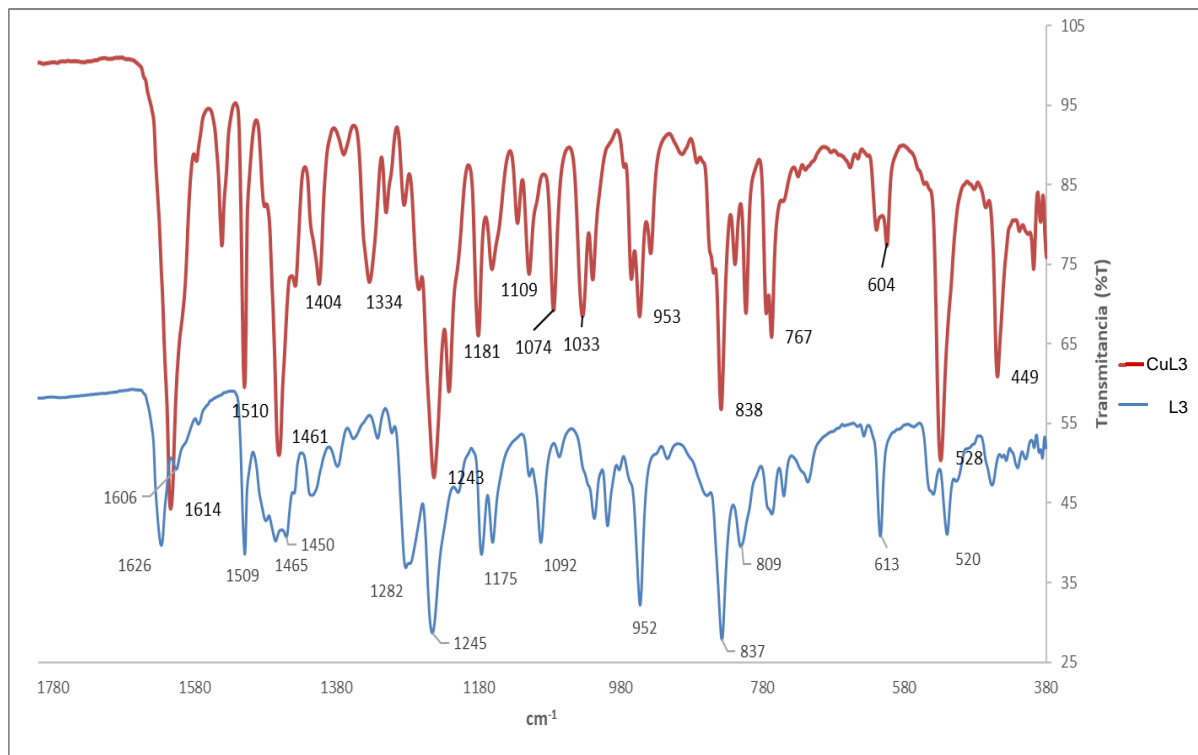
Anexo VIII: Superposición de los espectros FTIR de L₁ y CuL₁



Anexo IX: Superposición de los espectros FTIR de L₂ y CuL₂



Anexo X: Superposición de los espectros FTIR de L₃ y CuL₃



Anexo XI: Refinamiento de estructura y datos de cristal para 1723_0m (CuL₂)

Código de identificación	1723_0m	
Fórmula empírica	C ₃₅ H ₃₂ CuN ₂ O ₄	
Peso fórmula	608.16	
Temperatura	173(2) K	
Longitud de onda	0.71073 Å	
Sistema cristalino	Monoclínico	
Grupo Espacial	C2/c	
Dimensiones de la celda unitaria	a = 15.3859(5) Å	a = 90°.
	b = 10.6357(3) Å	b = 96.3520(10)°.
	c = 17.4682(5) Å	g = 90°.
Volumen	2840.94(15) Å ³	
Z	4	
Densidad (calculada)	1.422 Mg/m ³	
Coefficiente de absorción	0.813 mm ⁻¹	
F(000)	1268	
Tamaño de cristal	0.240 x 0.180 x 0.120 mm ³	
Rango theta para la recolección de data	3.350 to 27.544°.	
Rangos de índice	-19<=h<=19, -13<=k<=13, -22<=l<=22	
Reflexiones recolectadas	60016	
Reflexiones independientes	3257 [R(int) = 0.0304]	
Complejidad a theta = 25.242°	99.8 %	
Corrección de absorción	Multi-scan	
Método de refinamiento	Full-matrix least-squares on F ²	
Data / restricciones / parámetros	3257 / 0 / 192	
Bondad de ajuste en F ²	1.072	
Índices R finales [I>2sigma(I)]	R1 = 0.0250, wR2 = 0.0660	
Índices R (todos los datos)	R1 = 0.0273, wR2 = 0.0672	
Coefficiente de extinción	n/a	
Mayor diferencia pico y agujero	0.329 and -0.325 e.Å ⁻³	

Anexo XII: Longitudes de enlace para el complejo CuL₂

Enlace	Longitud de enlace (Å)
Cu(1)-O(1)	1.9062(9)
Cu(1)-O(1)#1	1.9062(9)
Cu(1)-N(1)	1.9562(11)
Cu(1)-N(1)#1	1.9562(11)
O(1)-C(5)	1.3091(15)
O(2)-C(15)	1.3753(15)
O(2)-C(18)	1.4163(19)
N(1)-C(3)	1.2894(17)
N(1)-C(2)	1.4707(17)
C(1)-C(2)#1	1.5268(18)
C(1)-C(2)	1.5268(18)
C(1)-H(1A)	0.9900
C(1)-H(1B)	0.9900
C(2)-H(2A)	0.9900
C(2)-H(2B)	0.9900
C(3)-C(4)	1.4368(18)
C(3)-H(3)	0.9500

Anexo XIII: Ángulos de enlace para el complejo CuL₂

Enlaces	Ángulos de enlace (°)
O(1)-Cu(1)-O(1)#1	89.22(6)
O(1)-Cu(1)-N(1)	93.03(4)
O(1)#1-Cu(1)-N(1)	161.56(4)
O(1)-Cu(1)-N(1)#1	161.56(4)
O(1)#1-Cu(1)-N(1)#1	93.03(4)
N(1)-Cu(1)-N(1)#1	90.59(7)
C(5)-O(1)-Cu(1)	126.71(8)
C(15)-O(2)-C(18)	117.27(11)
C(3)-N(1)-C(2)	118.56(11)
C(3)-N(1)-Cu(1)	125.59(9)

C(2)-N(1)-Cu(1)	115.68(8)
C(2)#1-C(1)-C(2)	113.90(16)
C(2)#1-C(1)-H(1A)	108.8
C(2)-C(1)-H(1A)	108.8
C(2)#1-C(1)-H(1B)	108.8
C(2)-C(1)-H(1B)	108.8
H(1A)-C(1)-H(1B)	107.7
N(1)-C(2)-C(1)	112.75(12)
N(1)-C(2)-H(2A)	109.0
C(1)-C(2)-H(2A)	109.0
N(1)-C(2)-H(2B)	109.0
C(1)-C(2)-H(2B)	109.0
H(2A)-C(2)-H(2B)	107.8
N(1)-C(3)-C(4)	125.44(12)
N(1)-C(3)-H(3)	117.3
C(4)-C(3)-H(3)	117.3
C(9)-C(4)-C(5)	119.91(12)
C(9)-C(4)-C(3)	117.48(12)
C(5)-C(4)-C(3)	122.45(12)
O(1)-C(5)-C(6)	118.55(11)
O(1)-C(5)-C(4)	124.80(12)