

Universidad Autónoma de Baja California
Facultad de Ciencias Químicas e Ingeniería

**“Síntesis de compuestos de tipo capsaicinoide mediante
sistemas de bifase y su actividad antioxidante”**



QUE PARA OBTENER EL TITULO DE
QUÍMICO FARMACOBIOLOGO

PRESENTA

RICARDO YEE RODRÍGUEZ

TIJUANA B.C.

OCTUBRE DEL 2017

Universidad Autónoma de Baja California

FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS E INGENIERÍA

"2017 Año del 60 Aniversario de la Universidad Autónoma de Baja California"

FOLIO No. 18

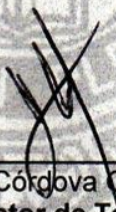
Tijuana, B. C., a 09 de octubre de 2017.

C. Ricardo Yee Rodriguez
Pasante de Químico Farmacobiólogo
Presente

El tema de trabajo y/o tesis para su examen profesional, en la
Opción Tesis

Es propuesto, por el Dr. Iván Córdova Guerrero quien será el responsable de la
calidad de trabajo que usted presente, referido al tema "Síntesis de Compuestos
de tipo capsaicinoide mediante sistemas de bifase y su actividad antioxidante", el
cual deberá usted desarrollar, de acuerdo con el siguiente orden:

- I.- INTRODUCCIÓN
- II.- HIPÓTESIS Y OBJETIVOS
- III.- ANTECEDENTES
- IV.- METODOLOGÍA
- V.- RESULTADOS
- VI.- CONCLUSIONES



Dr. Iván Córdova Guerrero
Director de Tesis



Dr. Luis Enrique Palafox Maestre
Director



Dr. José Luis González Vázquez
Subdirector



Agradecimientos

Mi familia. Por su incondicional apoyo durante mis estudios y educación tanto académica como en la formación de mis valores como persona. Gracias a mi familia he podido realizar este logro profesional, sin ellos no hubiese podido alcanzar mis metas, sin el apoyo incondicional de mi familia, sin su amor o sin su empuje. Agradezco a cada uno de ustedes, por su manera de pensar y de ser, la cual ha formado gran parte de mí.

Al Laboratorio de Química Medicinal y Productos Naturales. Por todo lo que he aprendido en el laboratorio, por los buenos momentos que pase con todos los miembros del laboratorio, y por la buena convivencia que se vive, por las cosas aprendidas por cada uno de los miembros del laboratorio. Agradezco al Dr. Iván Córdova por dejarme ser parte de tan grandioso equipo de investigación, y por aceptarme como tesista para formar parte del laboratorio, por sus consejos y su apoyo. Agradezco también al M.C. Eduardo Noriega por apoyarme en el proyecto en cada momento, transmitirme sus conocimientos, por sus consejos y por ser un buen amigo, a la M.C. Laura Díaz por la ayuda durante el proyecto y por sus consejos que me ayudaron mucho durante mi trayecto en mi formación profesional. Y a todos y cada uno que forman parte del laboratorio de Química Medicinal y productos Naturales que me estuvieron apoyando en cada momento así como en mi formación profesional.

Universidad Autónoma de Baja California, Facultad de Ciencias Químicas e Ingeniería. Porque sin ella no hubiera podido realizar mis estudios así como el trabajo de investigación, por tener tan buenos docentes, agradezco a cada uno que forma parte de la institución ya que me ayudo en mi formación profesional.

“La ciencia es más que un simple conjunto de conocimientos es una manera de pensar”.

Carl Sagan.



Resumen

Se ha demostrado que la capsaicina como sus análogos naturales poseen actividades biológicas interesantes. En el siguiente trabajo se presenta la síntesis química de compuestos tipo capsaicinoide mediante la técnica de bifase variando los sustituyentes sobre el anillo aromático y tamaño de cadena alifática, posteriormente se realiza la caracterización química y se someten a una evaluación antioxidante para la determinación de una relación estructura-actividad biológica

En la **introducción** se recopila información sobre el uso de productos naturales, como estos son una fuente de medicamentos y han sido utilizados a través de los siglos por el ser humano hasta la actualidad donde el uso de sustancias química ayudado a su mejoramiento y nuevos descubrimientos.

En las **generalidades** se presenta información importante y resumida sobre el uso de capsaicinoides, sus propiedades fisicoquímicas y principales propiedades farmacológicas, además de trabajos realizados con anterioridad por diferentes investigadores e instituciones.

Durante el **desarrollo experimental** se presenta primeramente la metodología sintética empleada y la caracterización mediante técnicas de espectroscopia de infrarrojo y espectrometría de masas, también se presentan las metodologías de los ensayos antioxidantes.

Por último, en la discusión se presentara el análisis de los resultados obtenidos, de la síntesis química y la evaluación antioxidante para finalmente presentar las principales conclusiones obtenidas.



Summary

In the following work we present the chemical synthesis of capsaicinoid compounds by a method that includes a **biphasic** technique. Since capsaicin and natural analogues have been shown to have interesting biological activities. It is proposed to synthesize analogues of capsaicin where the aromatic ring is substituted and the aliphatic side-chain size is subject to variation. After the purification of the compounds is complete the chemical characterization is carried out and subjected to biological tests in order to determine a biological structure-activity relationship.

In the **introduction** we review the different uses of natural products, as these are a source of many chemical compounds that can potentially lead to medications, and so they have been widely used over many centuries by humans, also, we briefly discuss the use of synthetic techniques to generate these same kind of compounds which have been shown and proven to help human society in many ways and can also lead to the discovery of new medications.

In the **general section** we discuss important information on the use of capsaicinoids as potential pharmaceuticals including their chemical, physical, and biological activities. In addition, previously performed studies by different researchers and institutions is also analyzed.

In the **experimental section** we discuss the methodology used to prepare these mentioned capsaicinoid compounds as well as the protocol employed to develop antioxidant biological activity essays. Part of the characterization is shown by spectrometric and spectroscopic techniques of the synthesized compounds.

Subsequently in the **results section** we analyze and discuss the obtained results from the chemical synthesis and the biological essays, and finally in the section of **conclusions** we approach the different inferences that we can extract from our obtained results.



Índice

ÍNDICE

1. Introducción.....	19
2. Hipótesis.....	26
3. Objetivo general y particulares.....	28
4. Generalidades.....	30
4.1. Propiedades biológicas de los capsaicinoides.....	32
4.2. Propiedades químicas.....	33
4.3 Los antioxidantes naturales.....	34
5. Desarrollo experimental.....	36
5.1. Ruta sintética general.....	37
5.2. Metodología antioxidante.....	54
5.2.1. DPHH.....	54
5.2.2. Decoloración oxidativa del β -caroteno.....	57
6. Discusión de resultados.....	59
6.1. Síntesis y caracterización.....	59
6.2. Evaluación antioxidante.....	64
7. Conclusiones.....	67
8. Anexos.....	70
9. Bibliografía.....	101
10. Técnicas experimentales.....	105

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Hidrólisis de la salicina.....	21
Figura 2. Estructura de la morfina.....	22
Figura 3. Síntesis de la Heroína.....	23
Figura 4. Estructura codeína.....	24
Figura 5. Estructura modelo de la capsaicina.....	26
Figura 6. Fruto <i>Capsicum</i>	30
Figura 7. Propiedades biológicas.....	31
Figura 8. Capsaicina.....	32
Figura 9. N-acetil cisteína.....	34
Figura 10. Reacción Global de síntesis.....	36
Figura 11. Reacción global metodológica.....	36
Figura 12. Estructura DPPH.....	53
Figura 13. Reacción global entre DPPH y antioxidante.....	54
Figura 14. Formula % actividad antioxidante.....	55
Figura 15. Estructura química de β -caroteno.....	56
Figura 16. Formula % actividad antioxidante.....	57
Figura 17. Mecanismo de acción.....	59
Figura 18. Espectro de infrarrojo Caps 3.....	60
Figura 19. Espectro de masas Caps 3.....	62
Figura 20. CE ₅₀ de producto CAPS 4.....	67

ÍNDICE DE ESQUEMAS

Esquema 1. Reacción general para la síntesis del compuesto N-(4hidroxifeniletíl)benzamida.....	39
Esquema 2. Reacción general para la síntesis del compuesto N-(4hidroxifeniletíl)pentanamida.....	40
Esquema 3. Reacción general para la síntesis del compuesto N-(4hidroxifeniletíl)-4-metilbenzamida.....	41
Esquema 4. Reacción general para la síntesis del compuesto N-(4hidroxifeniletíl)cinamamida.....	42
Esquema 5. Reacción general para la síntesis del compuesto N-(4-hidroxifeniletíl)acetamida.....	43
Esquema 6. Reacción general para la síntesis del compuesto N-Feniletílbenzamida.....	44
Esquema 7. Reacción general para la síntesis del compuesto N-Feniletílpentamida.....	45
Esquema 8. Reacción general para la síntesis del compuesto 4-metil-N-feniletílbenzamida.....	46
Esquema 9. Reacción general para la síntesis del compuesto N-feniletílcinamamida.....	47
Esquema 10. Reacción general para la síntesis del compuesto N-feniletílacetamida.....	48
Esquema 11. Reacción general para la síntesis del compuesto N-benzilbenzamida.....	49
Esquema 12. Reacción general para la síntesis del compuesto N-benzilpentamida.....	50
Esquema 13. Reacción general para la síntesis del compuesto N-benzil-4metilbenzamida.....	51
Esquema 14. Reacción general para la síntesis del compuesto N-benzilcinamamida.....	52
Esquema 15. Reacción general para la síntesis del compuesto N-benzilacetamida.....	53

Índice de Tablas

1. Tabla de Abreviaturas.....	16
2. Relación molar de reactivos.....	37
3. Datos IR M ⁺ Caps 1.....	38
4. Relación molar Caps 1.....	38
5. Datos IR M ⁺ Caps 2.....	39
6. Relación molar Caps 2.....	39
7. Datos IR M ⁺ Caps 3.....	40
8. Relación molar Caps3.....	40
9. Datos IR M ⁺ Caps 4.....	41
10. Relación molar Caps 4.....	41
11. Datos IR M ⁺ Caps 5.....	42
12. Relación molar Caps 5.....	42
13. Datos IR M ⁺ Caps 6.....	43
14. Relación molar Caps6.....	43
15. Datos IR M ⁺ Caps 7.....	44
16. Relación molar Caps 7.....	44
17. Datos IR M ⁺ Caps 8.....	45
18. Relación molar Caps 8.....	45
19. Datos IR M ⁺ Caps 9.....	46
20. Relación molar Caps 9.....	46
21. Datos IR M ⁺ Caps 10.....	47
22. Relación molar Caps 10.....	47
23. Datos IR M ⁺ Caps 11.....	48
24. Relación molar Caps 11.....	48
25. Datos IR M ⁺ Caps 12.....	49
26. Relación molar Caps 12.....	49
27. Datos IR M ⁺ Caps 13.....	50
28. Relación molar Caps 13.....	50
29. Datos IR M ⁺ Caps 14.....	51
30. Relación molar Caps 14.....	51
31. Datos IR M ⁺ Caps 15.....	52
32. Relación molar Caps 15.....	52
33. Porcentajes de rendimiento.....	59
34. Fragmentos moleculares.....	61
35. CE ₅₀	63
36. Actividad Antioxidante.....	65

Tabla de abreviaturas

Abreviatura	Descripción
a.C.	Antes de cristo
M.C.	Maestro en ciencia
CE₅₀	Concentración efectiva media
OMS	Organización Mundial de la Salud
TRPV1	Transient Receptor Potencial V1
ATP	Adenosin Trifosfato
ADN	Acido Desoxirribonucleico
TLC	Cromatografía de capa fina (Thin-layer chromatography)
HCl	Ácido Clorhídrico
NaHCO₃	Bicarbonato de sodio
CHCl₃	Cloroformo
IR	Infrarrojo

RMN	Resonancia Magnética Nuclear
IUPAC	Unión Internacional de Química Pura y Aplicada
cm⁻¹	Unidades de numero de onda
M⁺	Ion molecular
m/z	Relación masa carga
μM	Micromolar
M	Molaridad
nm	Nanómetros
μl	Microlitros
mL	Mililitros
DPPH	1-difenil-2-picrilhidrazilo
DPPH-H	1-difenil-2-picrilhidrazilo oxidada
DPPH-R	1-difenil-2-picrilhidrazilo reducida
mg	miligramos

min.	Minutos
-OH	Hidroxilo



Introducción

1. Introducción

1.1 Historia de los productos naturales

Los productos naturales (considerados todos los compuestos orgánicos provenientes del metabolismo secundario o también llamado metabolismo especial) han sido utilizados a lo largo de la historia, ya que el ser humano desde el principio tuvo que aprender a alimentarse, cazar, vestirse y curarse aprovechando los recursos naturales. Estos conocimientos aprendidos fueron practicados de manera empírica, a base de prueba y error que con el paso de los años y el cambio de las tribus nómadas a sedentarias llevo a la consolidación y el desarrollo de un lenguaje estructurado que permitió su difusión con mucha mayor eficacia, por lo que el hombre comenzó a especializarse en el manejo y utilización de plantas, animales y minerales con fines curativos.⁴

Muchas culturas sabían la importancia de tener conocimiento de las propiedades alimentarias, curativas y toxicas que tenían las plantas y animales, un ejemplo de esto fueron los ideogramas sumerios, que datan de hace aproximadamente 2500 a.C. el cual ya mencionaba medicinas de origen vegetal. Otro ejemplo de la historia son los formularios terapéuticos mesopotámicos muy conocidos por su tablillas con escritura que contenían listas de drogas de los sumerios, los cuales contenían unas 250 plantas, 120 sustancias minerales y 180 remedios de origen animal que poseían propiedades medicinales.

Uno de los primeros documentos más detallados fue el del *Códice de Hammurabi* (1730 - 1685 a.C.), el cual contiene referencias sobre el uso de plantas curativas que incluso en nuestros días siguen siendo utilizado. En ejemplo de esto son los jardines contruidos en el reinado de Mardukapalidine II (772-710 a.C.), donde se cultivaban alrededor de 64 especies de plantas con

propiedades medicinales entre las que destacan algunas que siguen siendo útiles hasta nuestros días como el beleño, el eléboro, la mandrágora, el cáñamo y la adormidera, entre otras.

La cultura china tuvo un gran auge en el estudio de las plantas, animales y minerales con fines terapéuticos, sus conocimientos fueron plasmados en compendios de los cuales el más importante es el llamado Pen tsao kang-mou escrito en el año 2697 a.C durante el reinado del emperador Shen Nung. Los chinos con su gran capacidad de observación aportaron diversos conocimientos enfocados a curar sus enfermedades. ⁴

1.2 Metabolitos secundarios

En la naturaleza las plantas producen una gran diversidad de compuestos orgánicos, los cuales pueden tener o no un uso en el metabolismo central del desarrollo vegetal. Las plantas son como laboratorios naturales donde se biosintetiza una gran cantidad de sustancias químicas, de hecho se les considera como la fuente de compuestos químicos más importante que existe.¹

Las sustancias químicas producidas por las plantas que tienen influencia directa en el crecimiento y desarrollo tales como los aminoácidos, nucleótidos, azúcares etc., se denominan *metabolitos primarios*, mientras que aquellos compuestos orgánicos que no tienen influencia directa sobre el desarrollo de la planta se denominan *metabolitos secundarios*, estos compuestos no presentan funciones bien definidas, generalmente sintetizados en pequeñas cantidades y de distribución restringida a un género, familia e incluso a un grupo específico de vegetales.

Los *metabolitos secundarios* son compuestos de interés farmacológico ya que es conocida su bioactividad en organismos animales. ² Los metabolitos secundarios se pueden producir en respuesta a un estrés hídrico, térmico, de superpoblación y radiante, frente a herbivoría, plagas o patógenos. Algunos productos del metabolismo secundario tienen funciones ecológicas

específicas como atrayentes o repelentes de animales, algunos otros son pigmentos que proporcionan color a flores y frutos, jugando un papel esencial en la reproducción atrayendo a insectos polinizadores, o a animales que van a utilizar los frutos como fuente de alimento, contribuyendo de esta forma a la dispersión de semillas.³

Los metabolitos secundarios han sido de gran importancia para el ser humano lo largo de la historia, por mencionar un ejemplo clásico de su uso, el alcohol *o*-hidroxibencílico, por hidrolisis conduce al compuesto saligenina un pro fármaco del *ácido salicílico* (Figura 1) y cuyos propiedades analgésicas, antipiréticas y antiinflamatorias eran ya conocidas por los egipcios; este metabolito se encuentra en la corteza de los árboles del sauce blanco (*Salix alba*), los árboles del género *Populus* y la hierba conocida como «reina de los prados» (*Filipéndula* o *Spirea ulmaria* M.). En el año 1826 la salicina fue aislada de la *Spirea* por el químico italiano Ludovico Brugnatelli, nombre que inspiraría posteriormente al famoso medicamento Aspirina.

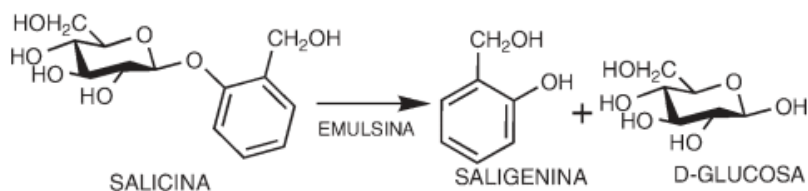


Figura 1. Hidrolisis de salicina

Posteriormente A. A. T. Cahours, oxidó la salicilida a ácido salicílico, el cual fue ensayado en humanos, pero abandonado por la irritación que producía en el estómago. En el año 1853, en plena fiebre de la síntesis orgánica, un químico de Estrasburgo, Charles von Gerhardt, acetiló el ácido y demostró que el ácido acetilsalicílico era mejor tolerado que todos de sus precursores u homólogos y que presentaba la misma actividad analgésica. Para el año 1934, Bayer crea la patente y la nombra Aspirin®. ⁵

Otro ejemplo digno de mencionar por su importancia es el metabolito secundario *morfina* (Figura 2), encontrada en la planta *Papaver somniferum* y conocida hace tiempo como amapola. La morfina, en honor al dios del sueño Morfeo, fue aislada del opio a principios del siglo XIX por el alemán Friedrich William Sertüner.

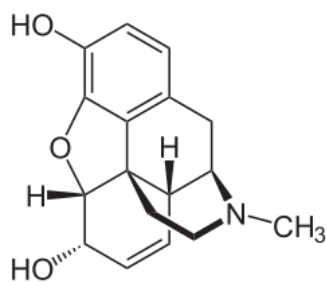


Figura 2. Estructura de la morfina

La planta de la amapola, conocida también como adormidera, siempre fue utilizada como alimento, forraje y aceite, pero hay registros históricos de que sus funciones psicotrópicas ya eran conocidas en 3.000 a.C. en Oriente Medio, donde era muy empleado para fines medicinales, se extendió su uso hacia la India y después, en el siglo IX, hasta China. Hasta finales del siglo XIX el consumo de opiáceos no constituyó un verdadero problema sanitario en Occidente, sólo con la popularización de la cultura de consumir opio

recreativamente/ocasionalmente y con el rápido incremento de los casos de adicción, sonó la alarma social para este problema.

Actualmente la morfina es utilizada como medicamento de elección contra el dolor de cáncer avanzado, de acuerdo a la Organización Mundial de la Salud (OMS), la cual se basa en una escala de dolor oncológico que sugiere el uso de antiinflamatorios no esteroideos para el dolor más leve en la primera etapa, opiáceos débiles para el dolor moderado en la segunda y opiáceos potentes para el dolor intenso en la tercera.¹¹

En el año 1874, fue creado el primer opiáceo semisintético, la diacetilmorfina, también conocida como heroína (Figura 3), cuando se acetilan los dos grupos hidroxilo la lipofilia aumenta, incrementando su entrada al sistema nervioso central a manera de pro fármaco, el cual, una vez metabolizado, son hidrolizados los grupos acetilos.

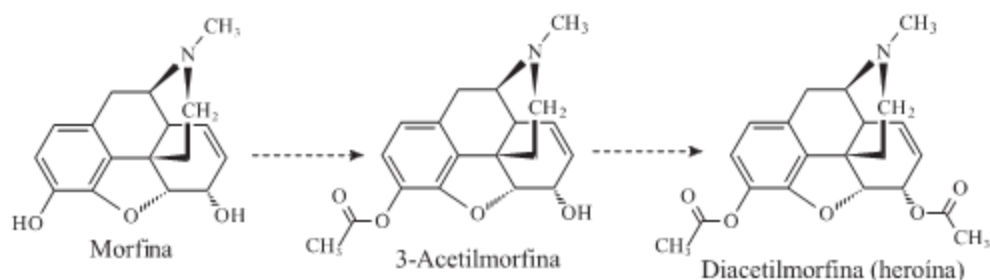


Figura 3. Síntesis de Heroína

Posteriormente la heroína fue comercializada por Bayer como sustancia antitusígena y como sustituto del opio y de la morfina en los tratamientos de deshabituación. La heroína alcanzó gran éxito comercial en todos los continentes por su alto efecto antiálgico, analgesia. Tuvieron que pasar muchos años para que este fármaco dejara de comercializarse debido a su popularización como droga recreativa en Estados Unidos e Inglaterra primeramente, para después expandirse

en casi todo el mundo. Después de la década de los 70's, la heroína se convirtió en el símbolo por excelencia de los efectos perniciosos de las drogas.

La codeína (Figura 4) otro análogo de la morfina, es un pro fármaco utilizado como analgésico, narcótico, y antitusígeno. Considerado como pro fármaco ya que durante el metabolismo se genera en menor proporción morfina.¹²

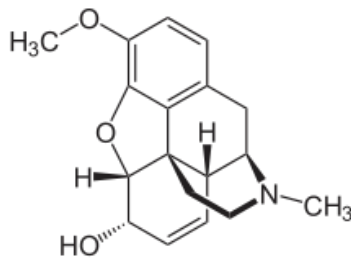


Figura 4. Estructura de la codeína

Estos son algunos ejemplos donde se demuestra la importancia del uso de los productos naturales y/o metabolitos secundarios donde con el uso de herramientas sintéticas se pueden llegar a lograr derivados y/o análogos más activos o con menores efectos secundarios, e incluso con diferentes propiedades biológicas.



Hipótesis

2. Hipótesis

Las sustituciones sobre el anillo aromático, así como la longitud de la cadena alifática, son factores estructurales importantes para la modulación de la actividad antioxidante en moléculas de tipo capsaicinoide. (Figura 5.)

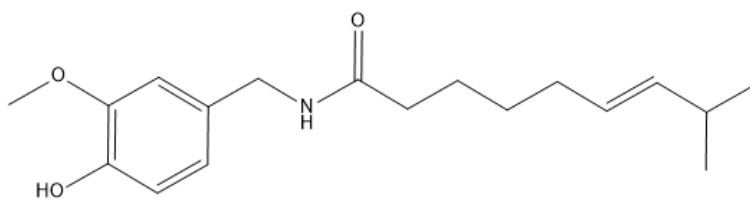


Figura 5. Estructura modelo de capsaicina



Objetivo general y particulares

Objetivo General

Sintetizar químicamente compuestos con estructuras de tipo capsaicinoide y establecer una posible relación estructura-actividad biológica mediante ensayos antioxidantes.

Objetivos Particulares

1. Sintetizar y purificar compuestos de tipo capsaicinoide mediante la técnica de bifase.
2. Caracterizar estructuralmente todos los productos sintetizados mediante espectroscopia de infrarrojo y espectrometría de masas.
3. Evaluar el potencial antioxidante de los análogos sintetizados mediante las técnicas de: decoloración oxidativa del β -caroteno y reducción del radical libre DPPH.
4. Analizar y proponer una posible relación estructura-actividad biológica antioxidante de las moléculas generadas.



Generalidades

4. Generalidades

Los chiles han sido valorados por los seres humanos desde tiempos antiguos por su uso en la cocina, siendo alimento y utilizados como especias, sin embargo, no solo añaden sabor a la comida, sino que también poseen un uso potencial en la medicina ya que investigaciones anteriores han demostrado que uno de los principales componentes del chile, la capsaicina y sus análogos naturales, poseen actividades biológicas importantes.⁶

La *capsaicina* (8-metil-N-vanillil-trans-6-nonenamida) es la molécula mayoritaria responsable del picor de los chiles, principal metabolito secundario de la familia *Capsicum*, seguido por la dihidrocapsaicina, nordihidrocapsaicina, homocapsaicina etc., las cuales causan una sensación de ardor los tejidos, principalmente epitelial, de los mamíferos cuando entran en contacto.⁶

La capsaicina se encuentra mayormente concentrada en los tejidos de la placenta que mantienen las semillas del fruto (chile), esto se debe a que es el lugar donde se lleva a cabo la mayor parte de la biosíntesis de esta molécula mediante la condensación de ácidos grasos y vainillilamina (Figura 6). Se cree que este metabolito secundario es sintetizado por las plantas del género *Capsicum* como defensa contra hongos, microbios y herbívoros, por lo que ha llamado la atención de varios científicos que investigan las propiedades biológicas de diversos capsaicinoides.⁷

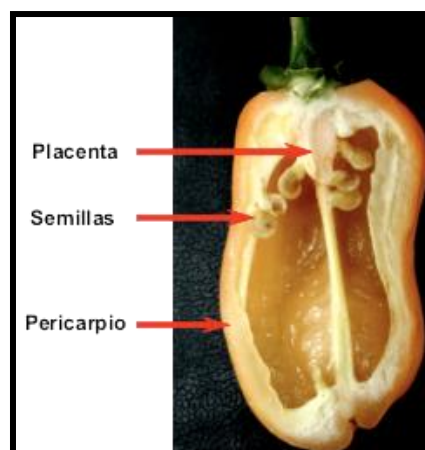


Figura 6. Fruto *Capsicum*

4.1 Propiedades biológicas de los capsaicinoides

Los diversos capsaicinoides que existen en la naturaleza han sido estudiados y se ha demostrado que poseen una amplia gama de actividades farmacológicas, por mencionar las principales: propiedades analgésicas, anticancerígenas, anti inflamatorias, antioxidantes, antimicrobianas (Figura7).⁸

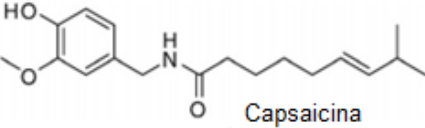
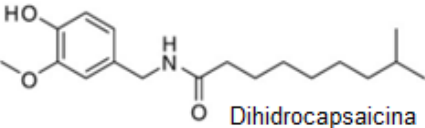
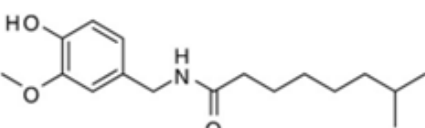
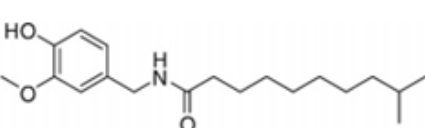
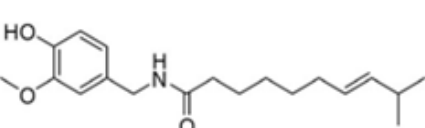
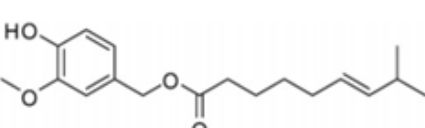
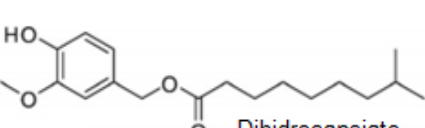
		Estructura química	Propiedades biológicas
Capsaicinoides		 Capsaicina	Analgesia, antiproliferativo, antiinflamatoria.
		 Dihidrocapsaicina	Analgesia, antiproliferativo, antiinflamatoria
		 Nordihidrocapsaicina	-
		 Homodihidrocapsaicina	-
		 Homocapsaicina	-
Capsiatos		 Capsiato	Analgesia, antiproliferativo, antiinflamatoria
		 Dihidrocapsiato	Antioxidante, antiproliferativo, antiinflamatoria

Figura 7. Propiedades biológicas

Se ha reportado que debido a su estructura molecular, los capsaicinoides son potentes agonistas de los receptores denominados Transient Receptor Potential V subfamily 1 (TRPV1) por sus siglas en inglés, son unos canales iónicos que una vez activados, desencadenan una estimulación nerviosa donde interviene el flujo de Calcio y otros iones⁹, dichos receptores se encuentran altamente distribuidos en el cuerpo: cerebro, vejiga, riñones, intestino, células de la piel, hígado etc. Actualmente la capsaicina es utilizada para el tratamiento de dolor asociado con neuropatía diabética y musculo esquelético, osteoartritis y artritis reumatoide, y en ciertos países como España o Canadá en forma de pomada tópica, también se utiliza para reducir náuseas y vómitos postoperatorios cuando se aplica en puntos de acupresión, como uso alternativo, los capsaicinoides se encuentran en una concentración de 0.18%-3% dentro del comercialmente conocido gas pimienta, el cual es usado como defensa personal ya que irrita las mucosas nasales y lagrimales.⁹

4.2 Propiedades químicas

La capsaicina (Figura 8) fue aislada en el año de 1817 por Christian Friedrich Bucholz, esta molécula tiene un carácter ligeramente lipofililico, es soluble en metanol, con un peso molecular de 305.41 g/mol y un punto de fusión de 62 °C, estructuralmente está formada por un anillo aromático sustituido (**A**), un enlace amida (**B**) y una cadena alifática (**C**).¹⁰

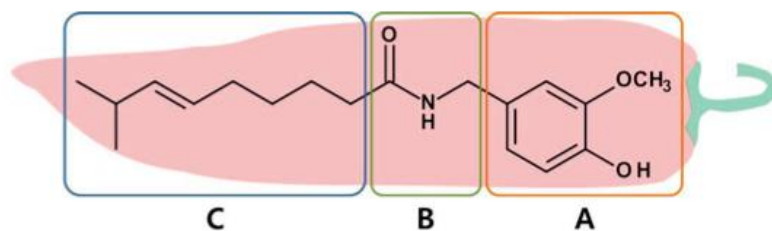


Figura 8. Capsaicina

Se sabe que los capsaicinoides conocidos hasta el momento en la naturaleza, contienen las tres características estructurales antes mencionadas, las cuales les proporcionan sus propiedades bioactivas dependiendo de las variaciones en el tamaño de la cadena alifática **(C)**, su saturación y las sustituciones presentes en el anillo aromático **(A)**. El enlace amida **(B)** se mantiene constante, siendo esta característica lo que diferencia a los capsaicinoides de otra familia de compuestos conocidos como capsinoides, los cuales contienen un enlace de tipo éster en lugar de amida, lo cual tiene como consecuencia el hecho que difieren poco en sus propiedades biológicas ya que el un capsinoide (éster) tiende a tener menor efectividad de analgesia, antiinflamatoria, antioxidante que el enlace amida (capsaicinoide).¹⁰

Actualmente han sido identificados más de 20 diferentes capsaicinoides en las plantas del género *Capsicum*, de los cuales todos presentan actividades biológicas variadas en función de su estructura molecular, algunos análogos sintéticos a estos compuestos presentan actividad citotóxica y antioxidante, encontrándose en fases pre-clínicas I y II.¹¹

4.3 Los antioxidantes naturales

Hoy en día existe un gran interés en las moléculas con potencial antioxidante provenientes de fuentes naturales como las plantas ya que son una alternativa a los productos sintéticos. El consumo de antioxidantes exógenos es indispensable en la dieta ya que actúan como mecanismo de defensa celular contra radicales libres.

El consumo de oxígeno por parte de las células, genera metabolitos tóxicos denominados especies reactivas del oxígeno o radicales libres, son compuestos altamente inestables, lo que les confiere una vida media extremadamente corta, por este motivo las células están equipadas con

mecanismos de defensa antioxidantes, pero, cuando la producción de radicales libres supera la capacidad de estos mecanismos de defensa, se desarrolla el estrés oxidativo, caracterizado por el incremento de radicales libres potencialmente dañinos para biomoléculas como el ácido desoxirribonucleico (ADN), proteínas, entre otras, lo que podría conducir al desarrollo de diferentes patologías.¹² Un ejemplo de la generación de radicales libre de manera natural en las células es la cadena transportadora de electrones, en la cual una célula obtiene energía en forma de adenosin trifosfato (ATP), específicamente a nivel de complejos I y III, se cree que durante este proceso, del 1-2% de electrones transportados generan radicales libres. Otra fuente de radicales es el sistema inmune, específicamente los macrófagos y leucocitos, los cuales utilizan estas especies reactivas para la eliminación de los microorganismos.¹³

El incremento de estas especies reactivas en la célula puede dar como resultado la carcinogénesis, que es el conjunto de fenómenos que determinan la aparición y desarrollo de un cáncer, se han reportado más de 100 lesiones oxidativas al ADN, lo cual se considera un suceso crucial en la carcinogénesis, ya que el daño a las bases nitrogenadas puede producir mutaciones.

Las células cuentan con mecanismos de defensa para contrarrestar los efectos de los radicales libres, algunos de ellos son la N-acetil cisteína (Figura 9) que puede bloquear el efecto del estrés oxidativo, algunas vitaminas (A, E y C), coenzimas (coenzima Q10), el glutatión y productos naturales como los flavonoides, carotenos y carotenoides. Es indispensable conservar un equilibrio apropiado entre oxidantes/antioxidantes para la evitar el daño y así prevenir la aparición de enfermedades crónico degenerativas.¹⁴

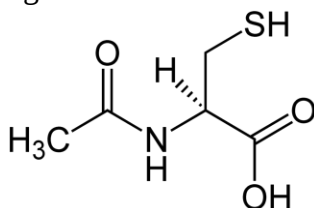


Figura 9. N-acetil cisteína



Desarrollo
experimental

5. Desarrollo experimental

5.1. Ruta sintética general

Para la síntesis de los compuestos de tipo capsaicinoide se utilizó la metodología conocida como bifase, reportada por Bo Wang en el año 2009, fueron utilizados una amina (siendo el grupo nucleófilo) y un cloruro de ácido (grupo saliente para la condensación) como materiales de partida.¹⁵ (Figura 10.)

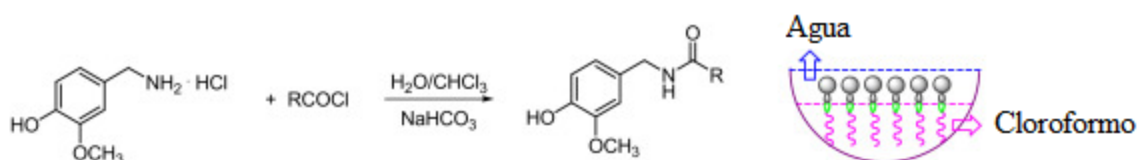


Figura 10. Reacción global de síntesis

La síntesis se lleva a cabo en un sistema de bifase donde es agitada la amina en forma ionizada en conjunto con bicarbonato de sodio por un periodo de 30 minutos en fase acuosa, posteriormente se adiciona cloroformo y se mantiene la agitación durante 15 minutos, para enseguida agregar lentamente el cloruro de ácido correspondiente disuelto en cloroformo, el avance de la reacción es monitoreado mediante cromatografía de capa fina TLC. (Figura 11.)

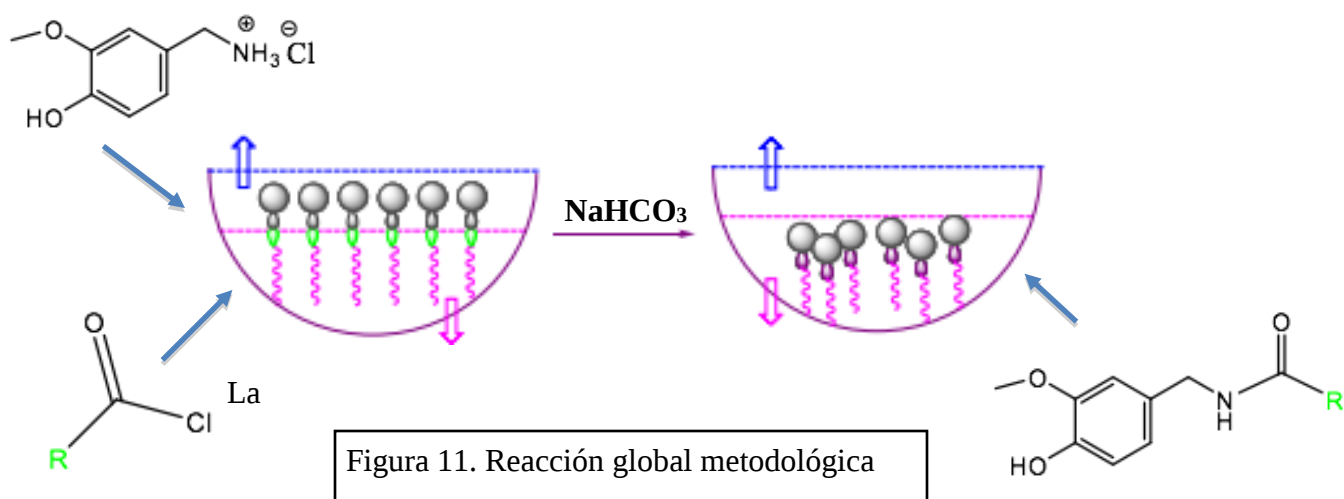


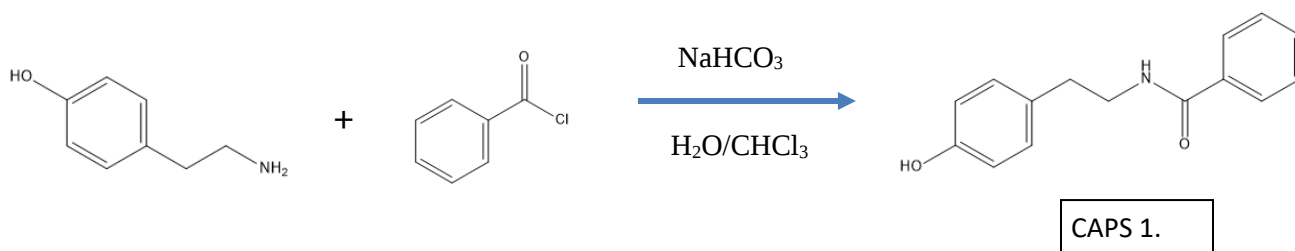
Figura 11. Reacción global metodológica

relación molar de los reactivos utilizados para la síntesis de los diferentes análogos fue la misma como se muestra (Tabla 2.)

Reactivos	Relación molar
Amina-HCl	1
Cloruro de Acido	1.2
Bicarbonato de sodio	3

Tabla 2. Relación molar de reactivos en el sistema bifase.

5.1.2 Síntesis del compuesto *N*-(4-hidroxifeniletíl)benzamida



Esquema 1. Reacción global para obtener el compuesto *N*-(4hidroxifeniletíl)benzamida.

Clave	CAPS 1.
IUPAC	<i>N</i> -(4hidroxifeniletíl)benzamida
IR (cm ⁻¹)	3245, 2868, 1650, 1611, 1535, 1449, 1219, 756
EM m/z %	241 [M ⁺] (<1), 120 (89), 105 (54), 77 (100), 51 (23)

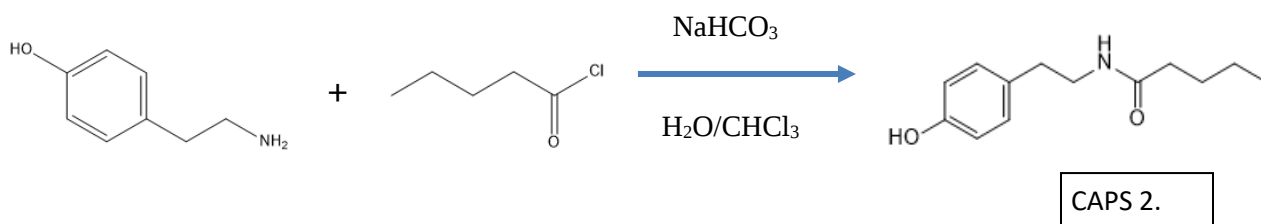
Tabla 3. Datos IR M⁺ Caps 1.

Para su síntesis se empleó la metodología explicada a detalle en el apartado 5.1 sin ninguna modificación en particular. Las cantidades empleadas fueron.

Compuesto	Peso molecular (g/mol)	mmol	Masa/Volumen
Tiramina-HCl	173.06	3.13	500 mg
Cloruro de benzoilo	140.57	9.5	441 µL
NaHCO ₃	84.007	3.8	798mg

Tabla 4. Relación molar Caps 1.

5.1.3 Síntesis del compuesto *N*-(4-hidroxifeniletíl)pentanamida



Esquema 2. Reacción global para obtener el compuesto *N*-(4hidroxifeniletíl)pentanamida

Clave	CAPS 2.
IUPAC	<i>N</i> -(4hidroxifeniletíl)pentanamida
IR (cm ⁻¹)	3329, 3026, 2928, , 1630, 1612, 1534, 1453, 1185, 744
EM m/z %	221 [M ⁺] (2), 178 (2), 120 (100), 107 (18), 85 (28)

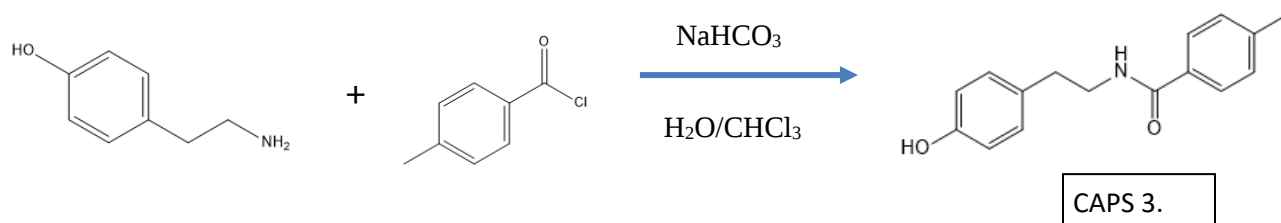
Tabla 5. Datos IR M⁺ Caps 2.

Para su síntesis se empleó la metodología explicada a detalle en el apartado 5.1 sin ninguna modificación en particular. Las cantidades empleadas fueron.

Compuesto	Peso molecular (g/mol)	mmol	Masa/Volumen
Tiramina-HCl	173.06	2.3	400 mg
Cloruro de valeroil	120.58	2.76	332.5 µL
NaHCO ₃	84.007	6.87	577.08mg

Tabla 6. Relación molar Caps 2.

5.1.4 Síntesis del compuesto *N*-(4-hidroxifeniletíl)-4-metilbenzamida



Esquema 3. Reacción global para obtener el compuesto *N*-(4hidroxifeniletíl)-4-metilbenzamida.

Clave	CAPS 3.
IUPAC	<i>N</i> -(4-hidroxifeniletíl)-4-metilbenzamida
IR (cm ⁻¹)	3427, 3269, 2922, 1665, 1611, 1533, 1224, 768
EM m/z %	136 (27), 120 (100), 91 (53), 65 (36)

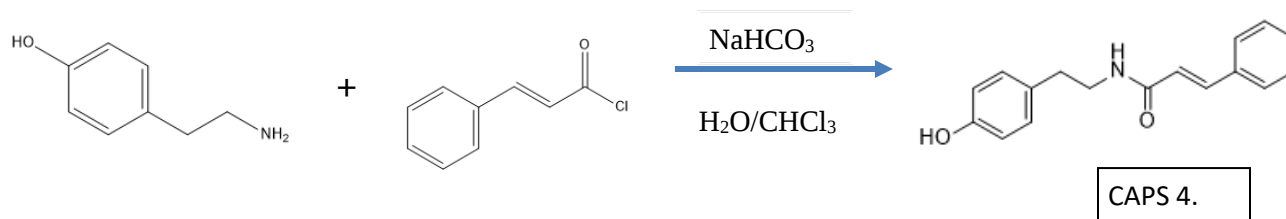
Tabla 7. Datos IR M⁺ Caps 3.

Para su síntesis se empleó la metodología explicada a detalle en el apartado 5.1 sin ninguna modificación en particular. Las cantidades empleadas fueron.

Compuesto	Peso molecular (g/mol)	mmol	Masa/Volumen
Tiramina-HCl	173.06	2.88	500 mg
Cloruro de p-toluilo	154.59	4.32	570.9 µL
NaHCO ₃	84.007	8.34	1581.12 mg

Tabla 8. Relación molar Caps 3

5.1.5 Síntesis del compuesto *N*-(4-hidroxifeniletíl)cinamamida



Esquema 4. Reacción global para obtener el compuesto *N*-(4hidroxifeniletíl)cinamamida

Clave	CAPS 4.
IUPAC	<i>N</i> -(4-hidroxifeniletíl)cinamamida
IR (cm ⁻¹)	3341, 2930, 1632, 1612, 1561, 1457 1245
EM m/z %	267 [M ⁺] (1), 131 (27), 120 (36), 103 (48), 77 (100)

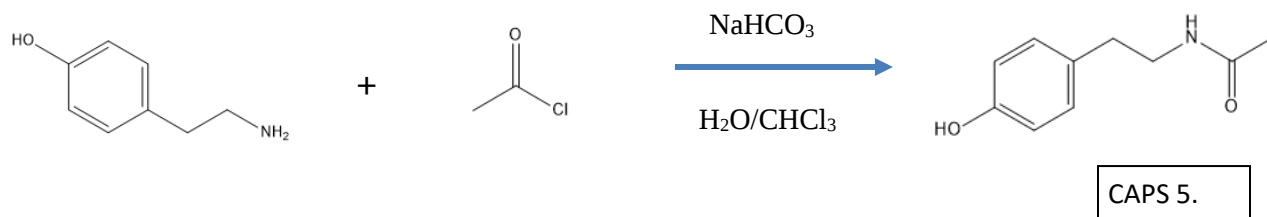
Tabla 9. Datos IR M⁺ Caps 4.

Para su síntesis se empleó la metodología explicada a detalle en el apartado 5.1 sin ninguna modificación en particular. Las cantidades empleadas fueron.

Compuesto	Peso molecular (g/mol)	mmol	Masa/Volumen
Tiramina-HCl	173.06	1.73	300 mg
Cloruro de cinamoilo	166.6	2.06	342.99 mg
NaHCO ₃	84.007	5.17	434.5 mg

Tabla 10. Relación molar Caps 4

5.1.6 Síntesis del compuesto *N*-(4-hidroxifeniletíl)acetamida.



Esquema 5. Reacción global para obtener el compuesto *N*-(4hidroxifeniletíl)acetamida

Clave	CAPS 5.
IUPAC	<i>N</i> -(4-hidroxifeniletíl)acetamida
IR (cm ⁻¹)	3318, 3031, 2949, 1636, 1451, 1418, 1275, 750.
EM m/z %	179 [M ⁺] (2), 120 (100), 107 (33), 91 (8), 77 (25)

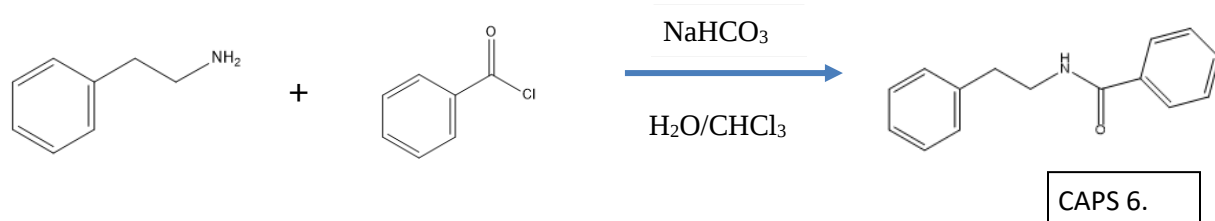
Tabla 11. Datos IR M⁺ Caps 5

Para su síntesis se empleó la metodología explicada a detalle en el apartado 5.1 sin ninguna modificación en particular. Las cantidades empleadas fueron.

Compuesto	Peso molecular (g/mol)	mmol	Masa/Volumen
Tiramina-HCl	173.06	2.88	500 mg
Cloruro de acetilo	78.5	3.45	246 µL
NaHCO ₃	84.007	8.64	725.75 mg

Tabla 12. Relación molar Caps 5.

5.1.7 Síntesis del compuesto *N*-Feniletilbenzamida



Esquema 6. Reacción global para obtener el compuesto *N*-Feniletilbenzamida

Clave	CAPS 6.
IUPAC	<i>N</i> -Feniletilbenzamida
IR (cm ⁻¹)	3323, 2920, 1610, 1543, 1446, 749
EM m/z %	225 [M ⁺] (4), 105 (67), 91 (71), 77 (100), 65 (44)

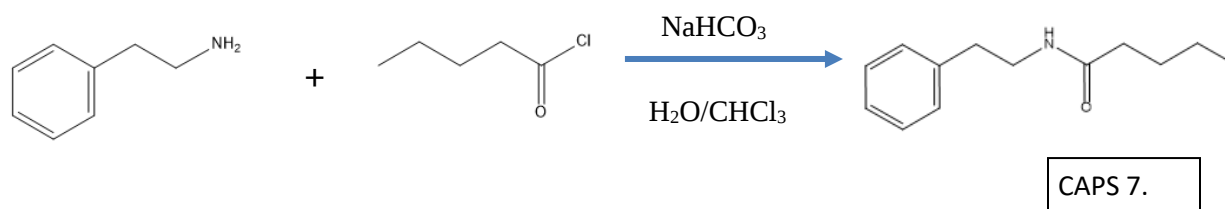
Tabla 13. Datos IR M⁺ Caps 6

Para su síntesis se empleó la metodología explicada a detalle en el apartado 5.1 sin ninguna modificación en particular. Las cantidades empleadas fueron.

Compuesto	Peso molecular (g/mol)	mmol	Masa/Volumen
Feniletilamina-HCl	157.64	3.17	500 mg
Cloruro de benzoilo	140.57	3.8	441 µL
NaHCO ₃	84.007	9.5	798 mg

Tabla 14. Relación molar Caps6.

5.1.8 Síntesis del compuesto *N*-Feniletilpentamida



Esquema 7. Reacción global para obtener el compuesto *N*-Feniletilpentamida

Clave	CAPS 7.
IUPAC	<i>N</i> -Feniletilpentamida
IR (cm ⁻¹)	3342, 3060, 1637, 1601, 1539, 1455, 1370.
EM m/z %	205 [M ⁺] (<1), 104 (52), 91 (100), 57 (73)

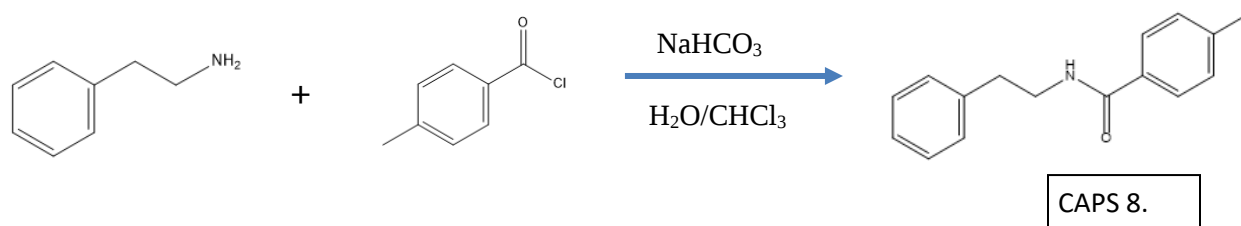
Tabla 15. Datos IR M⁺ Caps 7.

Para su síntesis se empleó la metodología explicada a detalle en el apartado 5.1 sin ninguna modificación en particular. Las cantidades empleadas fueron.

Compuesto	Peso molecular (g/mol)	mmol	Masa/Volumen
Feniletilamina-HCl	157.64	3.2	500 mg
Cloruro de valeroilo	120.58	3.84	455.4 µL
NaHCO ₃	84.007	11.52	967 mg

Tabla 16. Relación molar Caps 7.

5.1.9 Síntesis del compuesto 4-metil-N-feniletilbenzamida



Esquema 8. Reacción global para obtener el compuesto 4-metil-N-feniletilbenzamida

Clave	CAPS 8.
IUPAC	4-metil-N-feniletilbenzamida
IR (cm ⁻¹)	3323, 2920, 1610, 1543, 1446, 749
EM m/z %	239 [M ⁺] (4), 119 (47), 91 (100), 65 (63)

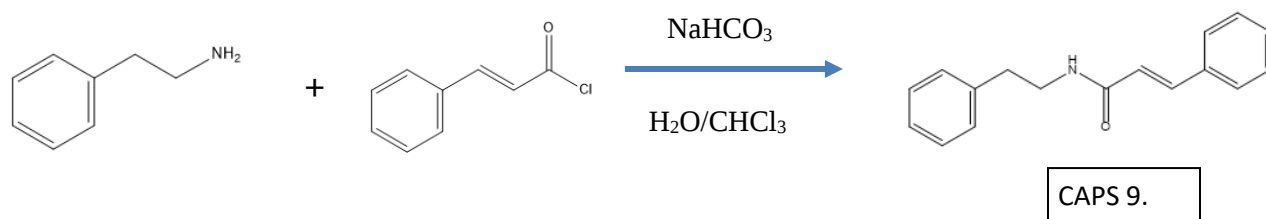
Tabla 17. Datos IR M⁺ Caps 8.

Para su síntesis se empleó la metodología explicada a detalle en el apartado 5.1 sin ninguna modificación en particular. Las cantidades empleadas fueron.

Compuesto	Peso molecular (g/mol)	mmol	Masa/Volumen
Feniletilamina-HCl	157.64	3.1	500 mg
Cloruro de P-toluyil	154.59	4.76	633 µL
NaHCO ₃	84.007	9.5	1738.5 mg

Tabla 18. Relación molar Caps 8.

5.1.10 Síntesis del compuesto *N*-feniletilcinamamida



Esquema 9. Reacción global para obtener el compuesto *N*-feniletilcinamamida

Clave	CAPS 9.
IUPAC	<i>N</i> -feniletilcinamamida
IR (cm ⁻¹)	3280, 3061, 2941, 1650, 1611, 1544 1450, 765
EM m/z %	251 [M ⁺] (2), 131 (35), 103 (30), 91 (100), 77 (53), 65 (45)

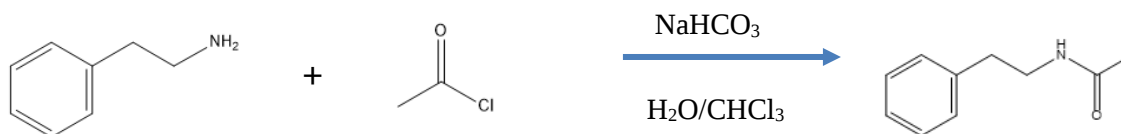
Tabla 19. Datos IR M⁺ Caps 9.

Para su síntesis se empleó la metodología explicada a detalle en el apartado 5.1 sin ninguna modificación en particular. Las cantidades empleadas fueron.

Compuesto	Peso molecular (g/mol)	mmol	Masa/Volumen
Feniletilamina-HCl	157.64	3.17	500 mg
Cloruro de conamoilo	166.6	3.8	632.7 mg
NaHCO ₃	84.007	9.5	684.72 mg

Tabla 20. Relacion molar Caps 9.

5.1.11 Síntesis del compuesto *N*-feniletilacetamida



CAPS 10.

Esquema 10. Reacción global para obtener el compuesto *N*-feniletilacetamida

Clave	CAPS 10.
IUPAC	<i>N</i> -feniletilacetamida
IR (cm ⁻¹)	3287, 3063, 2930, 1630, 1543, 1453, 1374, 739
EM m/z %	163 [M ⁺] (12), 104 (100), 91 (48), 77 (12), 65 (46)

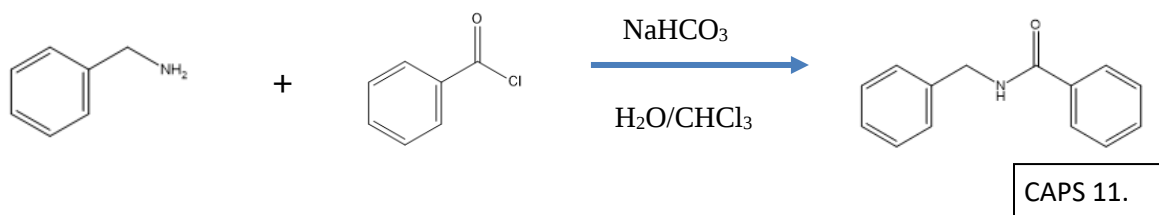
Tabla 21. Datos IR M⁺ Caps 10.

Para su síntesis se empleó la metodología explicada a detalle en el apartado 5.1 sin ninguna modificación en particular. Las cantidades empleadas fueron.

Compuesto	Peso molecular (g/mol)	mmol	Masa/Volumen
Feniletilamina-HCl	157.64	3.17	500 mg
Cloruro de acetilo	78.5	3.8	270 µL
NaHCO ₃	84.007	9.5	798 mg

Tabla 22. Relación molar Caps 10.

5.1.12 Síntesis del compuesto *N*-benzilbenzamida



Esquema 11. Reacción global para obtener el compuesto *N*-benzilbenzamida

Clave	CAPS 11.
IUPAC	<i>N</i> -benzilbenzamida
IR (cm ⁻¹)	3286, 3032, 2954, 1631, 1550, 1452 735
EM m/z %	211 [M ⁺] (6), 105 (30), 77 (100), 51 (49)

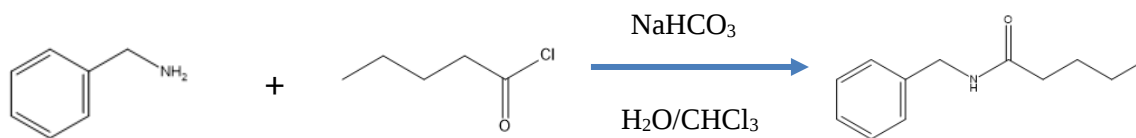
Tabla 23. Datos IR M⁺ Caps 11.

Para su síntesis se empleó la metodología explicada a detalle en el apartado 5.1 sin ninguna modificación en particular. Las cantidades empleadas fueron.

Compuesto	Peso molecular (g/mol)	mmol	Masa/Volumen
Bencilamina-HCl	143.61	3.48	500 mg
Cloruro de benzoilo	140.57	4.2	487.68 µL
NaHCO ₃	84.007	10.5	882 mg

Tabla 24. Datos IR M⁺ Caps 11

5.1.13 Síntesis del compuesto *N*-benzilpentamida



CAPS 12.

Esquema 12. Reacción global para obtener el compuesto *N*-benzilpentamida

Clave	CAPS 12.
IUPAC	<i>N</i> -benzilpentamida
IR (cm ⁻¹)	3305, 3058, 1638, 1612, 1548, 1449,
EM m/z %	191 [M ⁺] (9), 162 (4), 149 (34), 106 (50), 91 (100), 85 (5), 77 (19)

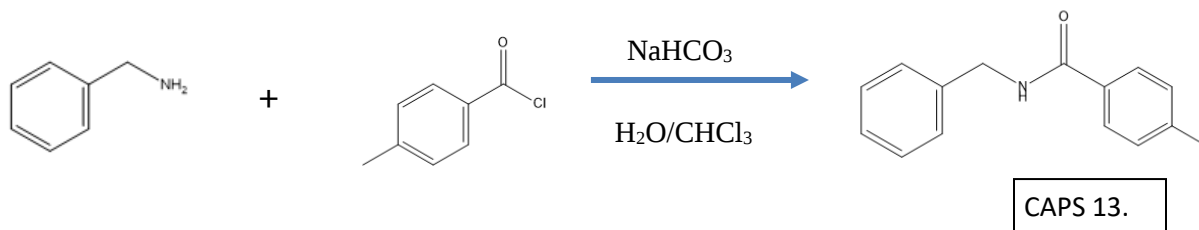
Tabla 25. Datos IR M⁺ Caps 12

Para su síntesis se empleó la metodología explicada a detalle en el apartado 5.1 sin ninguna modificación en particular. Las cantidades empleadas fueron.

Compuesto	Peso molecular (g/mol)	mmol	Masa/Volumen
Bencilamina-HCl	143.61	3.48	500 mg
Cloruro de valeroil	120.58	4.2	487.68 µL
NaHCO ₃	84.007	10.5	882 mg

Tabla 26. Relación molar Caps 12.

5.1.14 Síntesis del compuesto *N*-benzil-4-metilbenzamida



Esquema 13. Reacción global para obtener el compuesto *N*-benzil-4metilbenzamida

Clave	CAPS 13.
IUPAC	<i>N</i> -benzil-4metilbenzamida
IR (cm ⁻¹)	3328, 3011, 2934, 1625, 1565, 1377,
EM m/z %	225 [M ⁺] (23), 119 (95), 91 (100), 77 (42), 65 (65)

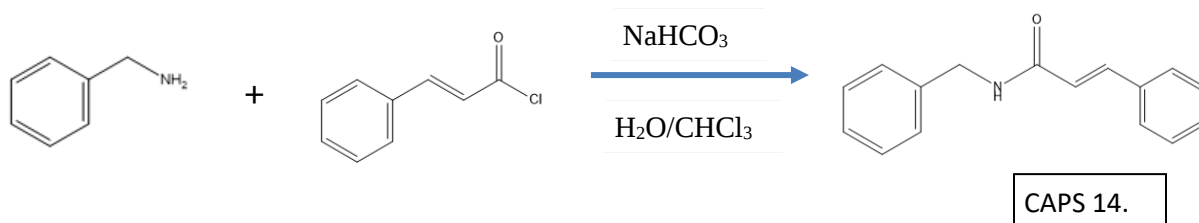
Tabla 27. Datos IR M⁺ Caps 13.

Para su síntesis se empleó la metodología explicada a detalle en el apartado 5.1 sin ninguna modificación en particular. Las cantidades empleadas fueron.

Compuesto	Peso molecular (g/mol)	mmol	Masa/Volumen
Bencilamina-HCl	143.61	3.48	500 mg
Cloruro de p-toluyil	154.59	5.79	765.2 µL
NaHCO ₃	84.007	11.58	972 mg

Tabla 28. Relación molar Caps 13.

5.1.15 Síntesis del compuesto *N*-benzilcinamamida



Esquema 14. Reacción global para obtener el compuesto *N*-benzilcinamamida

Clave	CAPS 14.
IUPAC	<i>N</i> -benzilcinamamida
IR (cm ⁻¹)	3329, 3026, 2928, 1630, 1612, 1534, 744
EM m/z %	237 [M ⁺] (37), 131 (78), 103 (87), 91 (43), 77 (100)

Tabla 29. Datos IR M⁺ Caps 14.

Para su síntesis se empleó la metodología explicada a detalle en el apartado 5.1 sin ninguna modificación en particular. Las cantidades empleadas fueron.

Compuesto	Peso molecular (g/mol)	mmol	Masa/Volumen
Bencilamina-HCl	143.61	3.48	500 mg
Cloruro de cinamoilo	166.6	4.18	695.9 µL
NaHCO ₃	84.007	10.42	875 mg

Tabla 30. Relación molar Caps 14.

5.1.16 Síntesis del compuesto *N*-benzilacetamida



CAPS 15.

Esquema 15. Reacción global para obtener el compuesto *N*-benzilacetamida

Clave	CAPS 15.
IUPAC	<i>N</i> -benzilacetamida
IR (cm ⁻¹)	3324, 3024, 2935, 1636, 1612, 1542
EM m/z %	149 [M ⁺] (45), 106 (100), 91 (40), 77 (43)

Tabla 31. Datos IR M⁺ Caps 15.

Para su síntesis se empleó la metodología explicada a detalle en el apartado 5.1 sin ninguna modificación en particular. Las cantidades empleadas fueron.

Compuesto	Peso molecular (g/mol)	mmol	Masa/Volumen
Bencilamina-HCl	143.61	3.4	500 mg
Cloruro de acetilo	78.5	4.1	327.8 µL
NaHCO ₃	84.007	10.44	877 mg

Tabla 31. Datos IR M⁺ Caps 15.

5.2 Metodología Antioxidante

5.2.1 Determinación de la capacidad antioxidante por el método DPPH (1,1- difenil-2-picrilhidrazilo)

Como se mencionó anteriormente, un radical libre es un átomo o molécula con uno o más electrones no apareados en el último orbital, capaz de reaccionar con múltiples biomoléculas a través de su oxidación. Los radicales libres son producto del metabolismo celular y también pueden ser generados de fuentes exógenas como rayos X, humo de tabaco, contaminación ambiental etc.

El efecto dañino de los radicales libres en los sistemas biológicos se produce cuando los radicales libres superan el equilibrio radical libre-antioxidante, o bien, por la deficiencia de antioxidantes, estos radicales pueden oxidar biomoléculas como lípidos, proteínas, ADN, componentes de la membrana celular, llegando a producir estrés oxidativo y cáncer.¹⁷

El método de reducción del radical libre DPPH (1,1-difenil-2-picrilhidrazilo) (Fig. 12) es un ensayo que nos permite determinar la capacidad antioxidante una variedad de muestras, como extractos de plantas, moléculas sintéticas, alimentos comerciales, etc.¹⁸

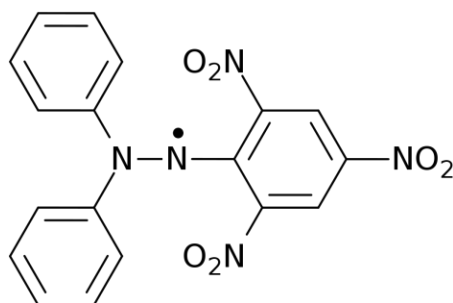


Figura 12. Molécula DPPH

evaluar e inmediatamente después se cubren de la luz para incubar por un periodo de 30 minutos a temperatura ambiente. Pasado el tiempo de reposo, se calibra el espectrofotómetro a una longitud de onda de 517 nm, utilizando metanol como blanco y se leen las diferentes muestras, incluyendo la solución original del radical DPPH. El porcentaje de actividad antioxidante para cada una de las concentraciones es obtenido mediante la siguiente formula (Fig. 14).

$$\% \text{ Actividad antioxidante} = \left[1 - \left(\frac{A_m}{A_c} \right) \right] \times 100$$

A_m = absorbancia promedio de la muestra.

A_c = absorbancia de la muestra control (Solución DPPH)

Figura 14. Formula % actividad antioxidante.

Con los datos de porcentaje obtenidos se realiza un gráfico de dispersión respecto a la concentración para la determinación de la concentración efectiva media CE50, la cual representa la concentración de muestra requerida para inhibir el 50 % del radical, como control positivo fue utilizada capsaicina grado reactivo.

5.2.2 Determinación de la capacidad antioxidante por el método de decoloración oxidativa de β -caroteno.

Los carotenoides son los pigmentos responsables de la mayoría de los colores amarillos, anaranjados y rojos en frutas y verduras, estructuralmente, esto es debido a la presencia de un cromóforo formado por una cadena de dobles enlaces conjugados. Los dobles enlaces conjugados presentes en el pigmento caroteno (Fig. 15), son los responsables de la actividad antioxidante que presenta.¹⁹

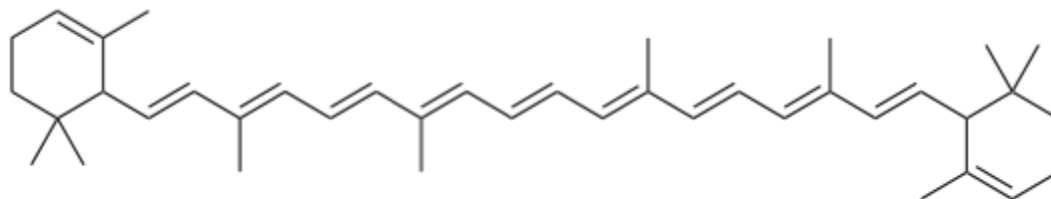


Figura 15. Estructura química de β -caroteno.

La técnica de decoloración oxidativa del β -caroteno se considera colorimétrica ya que la oxidación sucesiva del β - caroteno debido al medio oxidativo en el que se encuentra, conlleva a la pérdida de coloración de la emulsión utilizada en el ensayo, la sustancia a evaluar debiera actuar como un agente protector del β -caroteno, impidiendo así su oxidación y por consiguiente la pérdida de la coloración; estos cambios colorimétricos pueden ser detectados mediante espectroscopia.

Procedimiento.

Se pone a burbujear un volumen de 60 mL de agua destilada durante una hora, en este lapso de tiempo se prepara una disolución de β -caroteno de la siguiente manera: 0.2 mg de β - caroteno en

1-2 mL de cloroformo, se adicionan 20 µL de ácido linoléico y 200 µL de Tween 20, esta solución se homogeniza y se cubre de la luz directa, se espera hasta que el cloroformo se evapore completamente.

Para la muestra a evaluar, se prepara una solución a una concentración de 1mg/ ml (por triplicado). Una vez evaporado el cloroformo de la solución de β- caroteno, se adicionan 50 mL de agua destilada previamente en burbujeo para generar la emulsión de trabajo.

Una vez listas todas las soluciones requeridas, se mezclan 350 µL de la solución patrón de la muestra a evaluar con 2.5 mL de la emulsion de caroteno, se calibra el espectrofotómetro a una longitud de onda de 470 nm y se realiza una lectura de absorbancia a un tiempo de 0 minutos (t_0), una vez leídas todas las muestras, se colocan en un baño maría a una temperatura de 50 °C durante 2 horas, pasado este tiempo se realiza una última lectura de todas las muestras a un tiempo de 120 minutos (t_{120}). Este ensayo se realiza por triplicado para cada una de las muestras y la emulsión.

El porcentaje de actividad antioxidante es calculado mediante la siguiente fórmula (Fig. 16).

$$\% \text{ Actividad antioxidante} = \left[1 - \left(\frac{Am^0 - Am^{120}}{Ac^0 - Ac^{120}} \right) \right] \times 100$$

Am^0 = Promedio de las absorbancias de las muestras a tiempo cero.

Am^{120} = Promedio de las absorbancias de la muestra a tiempo 120 minutos.

Ac^0 = Promedio de las absorbancias de la emulsión sola a tiempo cero.

Ac^{120} = Promedio de las absorbancia de la emulsión sola a tiempo 120 minutos.

Figura 16. Formula % actividad antioxidante



Discusión de resultados

6.0 Discusión de resultados.

6.1 Síntesis y caracterización

La síntesis química de tipo bifase utilizada en este proyecto para la obtención de los capsaicinoides, fué eficiente y presentó muchas ventajas frente a otras metodologías convencionales ya conocidas. Por ejemplo, la alta pureza de los productos.

Esta reacción es conocida como reacción de Schotten Baumann (Figura 16) que muestran rendimientos de reacción aceptables (Tabla 7).

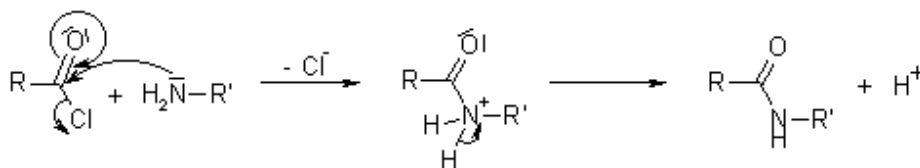


Figura 17. Mecanismo de Acción

47% 	85% 	77%
68% 	86% 	85%
60% 	74% 	63%
40% 	55% 	83%
75% 	78% 	79%

Tabla 32. Porcentajes de rendimiento

En la tabla anterior se muestran todos los rendimientos de los compuestos sintetizados, en donde se observa el más alto con un 86 % y el menor con un 40 % de rendimiento. De acuerdo a los reportes de la literatura científica estos datos están dentro del intervalo aceptable para este tipo de reacciones. (Bo Wang 2009).

En relación a la caracterización estructural de estos productos, se utilizaron las técnicas de espectrometría de masas y espectroscopía infrarroja. Todos los compuestos fueron elucidados correctamente. Los datos más representativos con la técnica de infrarrojo (Figura 17), se relacionaron con los estiramientos característicos del grupo carbonilo y -NH de la función amida a 1665 y 3269 cm^{-1} respectivamente, la presencia de los grupos metileno $\text{-CH}_2\text{-}$ a 1437 cm^{-1} , los estiramientos del =C-H aromático a la izquierda de 3000 cm^{-1} y las bandas relacionadas con la función C=C de un sistema aromático entre 1600 y 1500 cm^{-1} .

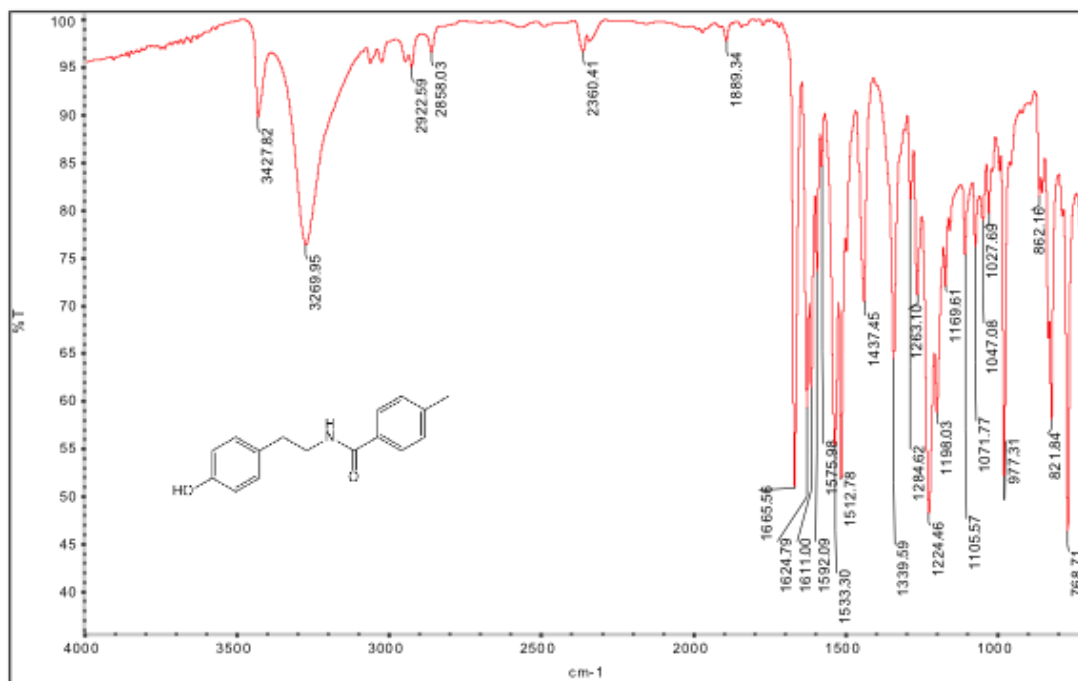


Figura.18 Espectro de infrarrojo Caps 3.

Por otro lado, la información de espectrometría de masas, nos proporcionó en sus espectros los respectivos iones moleculares y los fragmentos característicos de cada molécula. Por ejemplo, el compuesto que se muestra en el siguiente gráfico (Figura 18), nos indica la presencia de un ión molecular de $m/z = 283$, el pico base de 120 característico de un fragmento de tipo fenólico que podría corresponder a la ruptura del enlace entre carbono y nitrógeno de la amida. También podemos observar fragmentos característicos de este tipo de compuestos como el pico 119 que corresponde a la ruptura del enlace amida del carbonilo. El pico 91 corresponde al rompimiento entre el carbonilo y el grupo *P*-toluilo característico de este tipo de compuestos por fragmentación. (Tabla .33)

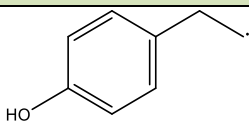
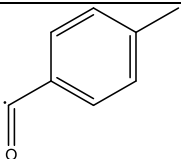
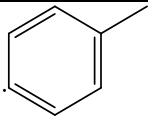
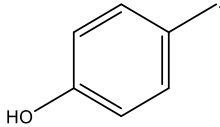
Pico	Abundancia Relativa
	120.10
	119.12
	91.12
	107.07

Tabla 33. Fragmentos moleculares

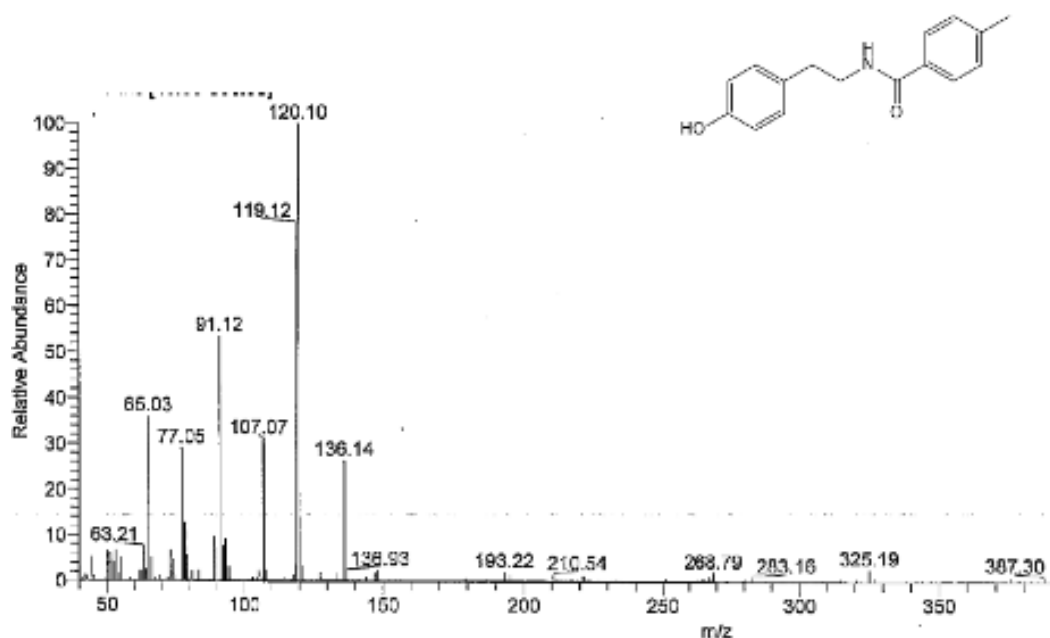


Figura 19. Espectro de masas Caps 3.

En todo los compuestos se pudieron observar los grupos característicos en los espectros infrarrojos que son el grupo carbonilo C=O, el estiramiento de la amina –NH grupos metileno y aromáticos. En los diferentes espectros. Y en su caso el estiramiento –OH dependiendo de cada molécula.

En el caso de espectrometría de masas se observaron patrones de fragmentación muy similares mostrados anteriormente, ya que como son compuestos análogos comparten fragmentos en común que en todos los casos son repetitivos ya que corresponde a los fragmentos más estables de cada molécula.

6.2 Evaluación Antioxidante

6.2.1 Ensayo antioxidante método DPPH.

En la determinación de la actividad antioxidante por este método antiradicalario, en donde la CE_{50} (concentración efectiva media) nos indica la cantidad efectiva media para neutralizar el 50% del radical DPPH, se obtuvieron los siguientes resultados:

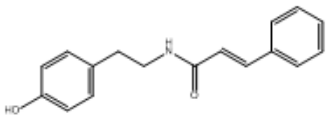
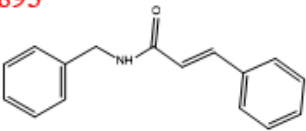
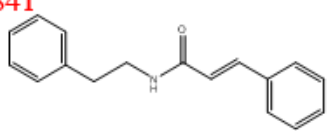
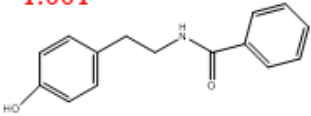
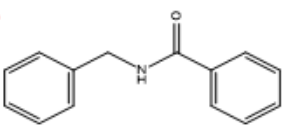
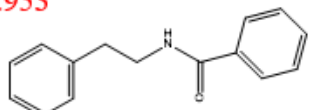
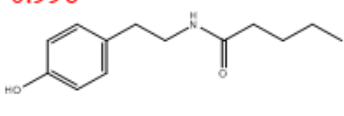
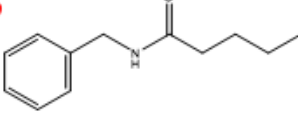
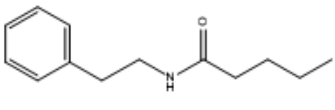
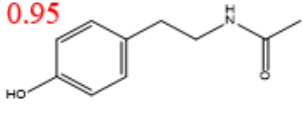
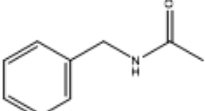
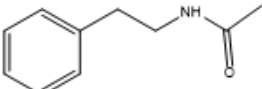
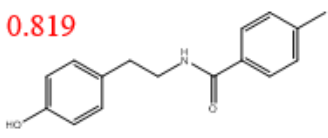
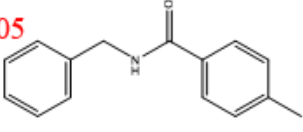
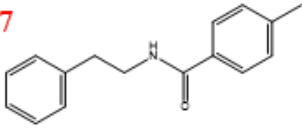
CE_{50} (mg/ml)	Capsaicina: 0.274	
0.809		
0.893		
0.841		
1.001		
1.09		
0.953		
0.996		
2.06		
2.804		
0.95		
1.012		
2.11		
0.819		
2.005		
0.917		

Tabla 34. CE_{50}

Como era de esperarse y de acuerdo a las referencias, la capsaicina mostro un buen comportamiento antioxidante como inhibidor del 50 % del radical DPPH con un CE_{50} de 0.274 mg/ml. Al comparar este resultado con los obtenidos de los análogos sintéticos, se observa que requieren una mayor concentración para inhibir este radical.

Podemos observar que el compuesto con el CE_{50} más alto de 2.80, presenta en su estructura solo cadenas alifáticas y un anillo aromático sin ningún tipo de sustitución. De manera análoga el resto de los capsaicinoides que presentaron estos resultados tienen una estructura con características similares.

El capsaicinoide sintético más activo presentó un valor de CE_{50} de 0.809 mg/ml. No supero al control, pero se sugiere que el anillo aromático sustituido con un grupo hidroxilo (-OH) y la presencia de un doble enlace, favorecieron el mecanismo antioxidante de estos compuestos.

Cabe mencionar que la capsaicina cuenta con sustituciones aromáticas de tipo metoxi e hidroxilo, y una olefina en su cadena lateral, se puede establecer que estas funciones químicas son esenciales y requeridas en la actividad antioxidante de estos compuestos.

6.2.2 Ensayo antioxidante con el método de β -caroteno.

Este método se basa en la protección del sustrato de tipo carotenoide frente a fuentes moleculares oxidativas generados con ácido linoléico. Se utilizan moléculas con perfiles antioxidantes y que por su reactividad sean capaces de proteger al caroteno.

Los resultados de este estudio se presentan a continuación:

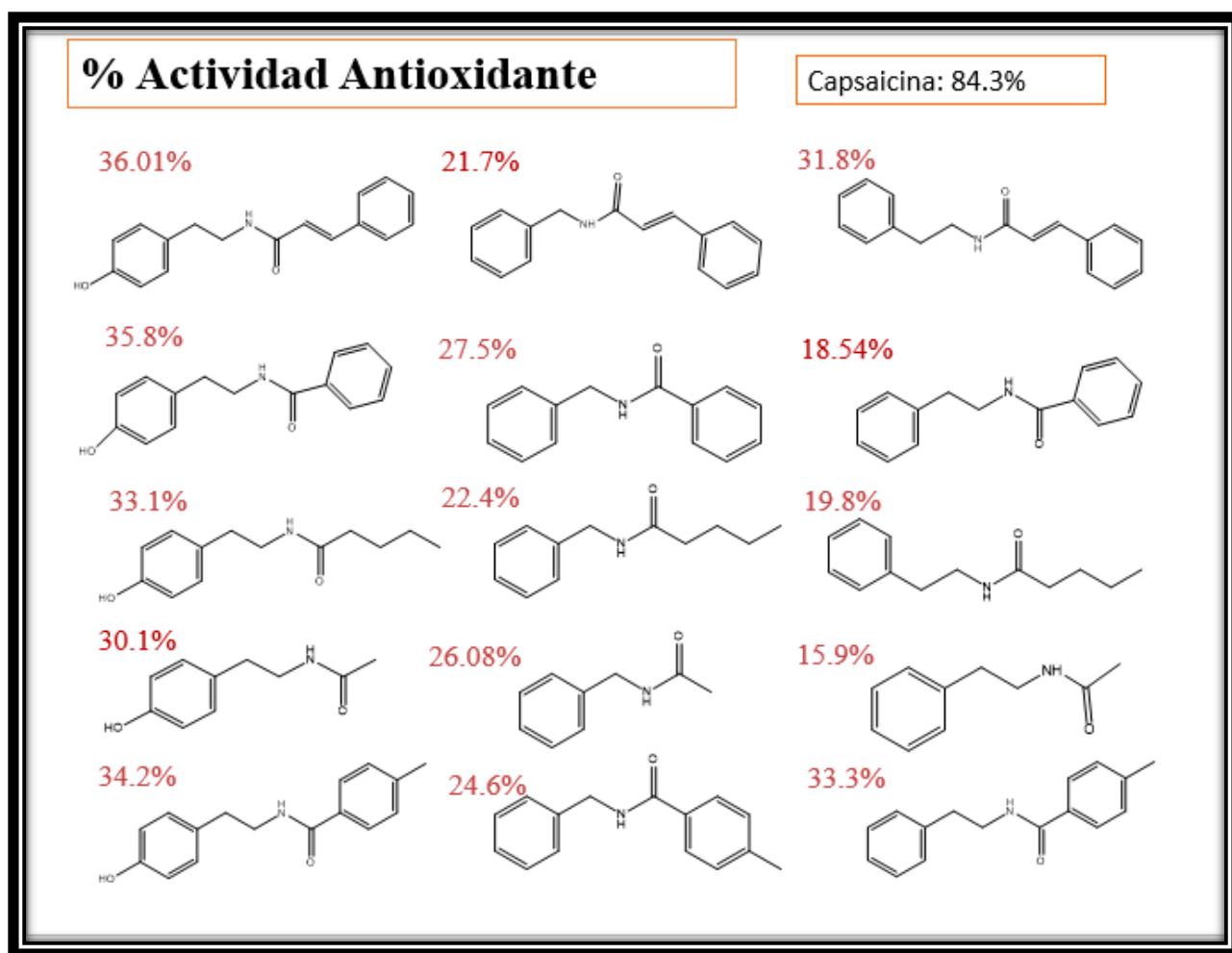


Tabla 35. % Actividad Antioxidante

El resultado de menor actividad antioxidante de los capsaicinoides sintéticos fue de 15.9%, que pertenece a la molécula que no tiene sustituyentes en su anillo aromático y una cadena alifática corta conectada a la función amida.

Los resultados de mejor actividad de inhibición antioxidante, los presentaron las moléculas con un sistema fenólico. Es bien sabido que este tipo de estructuras aromáticas con grupos hidroxilo favorecen la neutralización de radicales libre y otros agentes oxidativos.²¹

También se sugiere que la presencia de dobles enlaces en estas estructuras de tipo capsaicinoide, son importantes en el mecanismo de acción antioxidante como puede verse en los resultados de estos experimentos.



Conclusiones

7. Conclusiones.

Mediante la síntesis química de tipo bifase, se lograron obtener 15 productos de tipo capsaicinoide y con rendimientos aceptables que oscilaron entre el 40 y 86 %.

Todos los productos fueron caracterizados estructuralmente con las técnicas de, espectroscopía infrarrojo y espectrometría de masas. Fueron observados varios de los fragmentos moleculares y los grupos funcionales correspondientes a estos compuestos sintéticos.

En el ensayo antioxidante con la técnica de reducción del radical libre DPPH, los capsaicinoideos que mostraron un mejor perfil activo con una CE_{50} menor, fueron los que presentaban en su estructura en anillo fenólico y un sistema α - β insaturado. En la imagen podemos observar el producto con mejor resultado de clave CAPS 4 mostrando un CE_{50} de 0.809 mg/ml. (Figura 16).

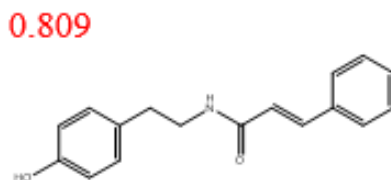


Figura 20. CE_{50} de producto CAPS 4

Todos los compuestos evaluados con el método de la decoloración oxidativa del β -caroteno, no presentaron resultados favorables comparado con el control capsaicina ya que no supero o igualo su resultado, siendo este el modelo a seguir, sin embargo, aquellos que se presentan con la monosustitución hidroxílica sobre el anillo aromático y una olefina en la cadena lineal, se favoreció su efecto molecular antioxidativo.

En general, de los estudios antioxidantes realizados con estos compuestos de tipo capsaicinoide, se sugiere que los sistemas fenólicos y la presencia de funciones carbonílicas α - β insaturadas, son esenciales en la inhibición de radicales libres y otras entidades oxidantes.

Trabajo futuro.

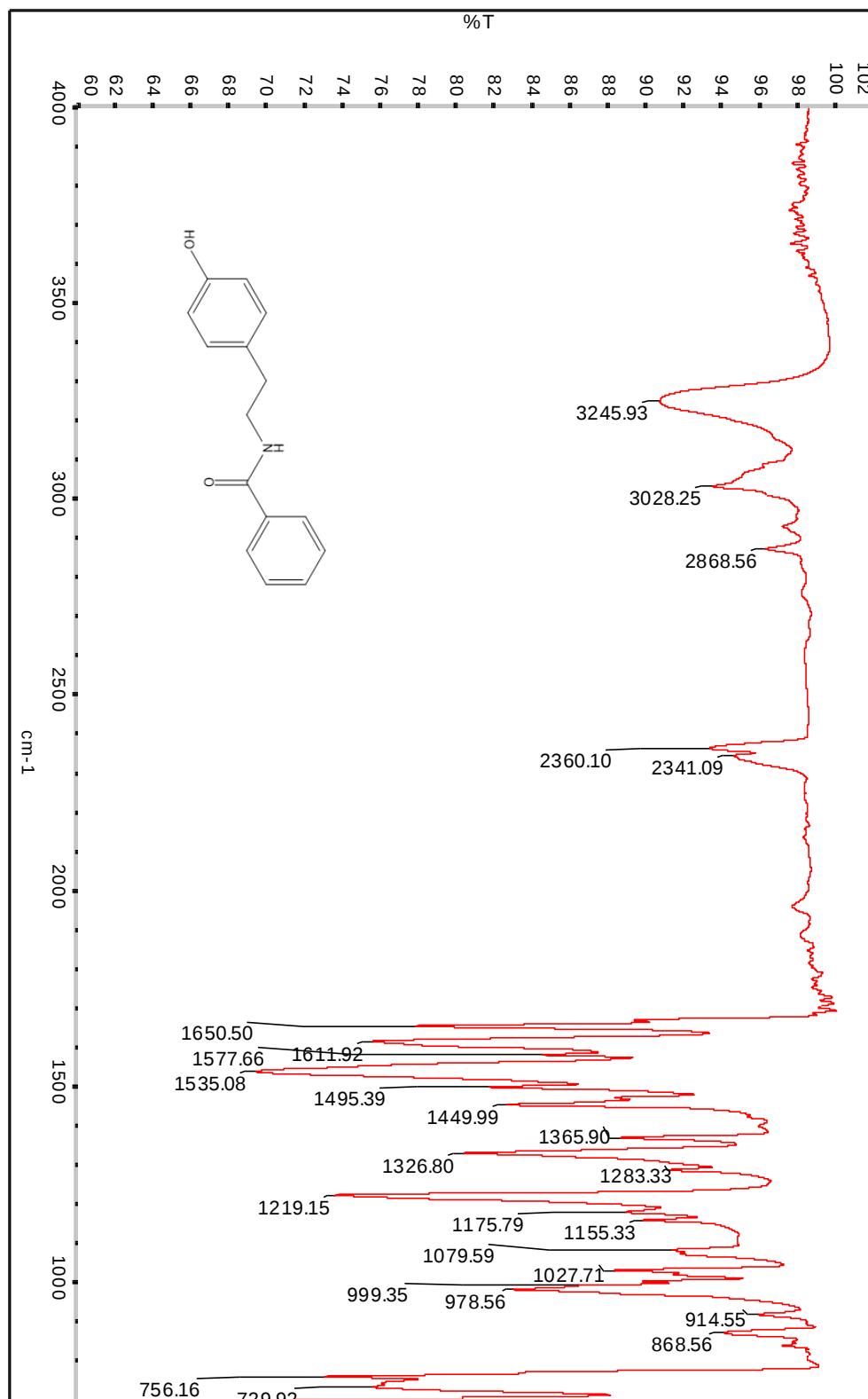
Llevar a cabo la caracterización completa de los productos obtenidos por resonancia magnética nuclear de protón y C-13, ya que es requerido para la publicación de este tipo de resultados en una revista de rigor científico.

Es sugerible sintetizar un mayor número y variado de estos productos probando cadenas carbonílicas α - β y anillos aromáticos sustituidos como metoxilos, para poder realizar un estudio de relación estructura-actividad biológica, y que nos permita determinar con mayor certeza cuáles son los elementos estructurales requeridos en el perfil antioxidante de estos capsaicinoides.

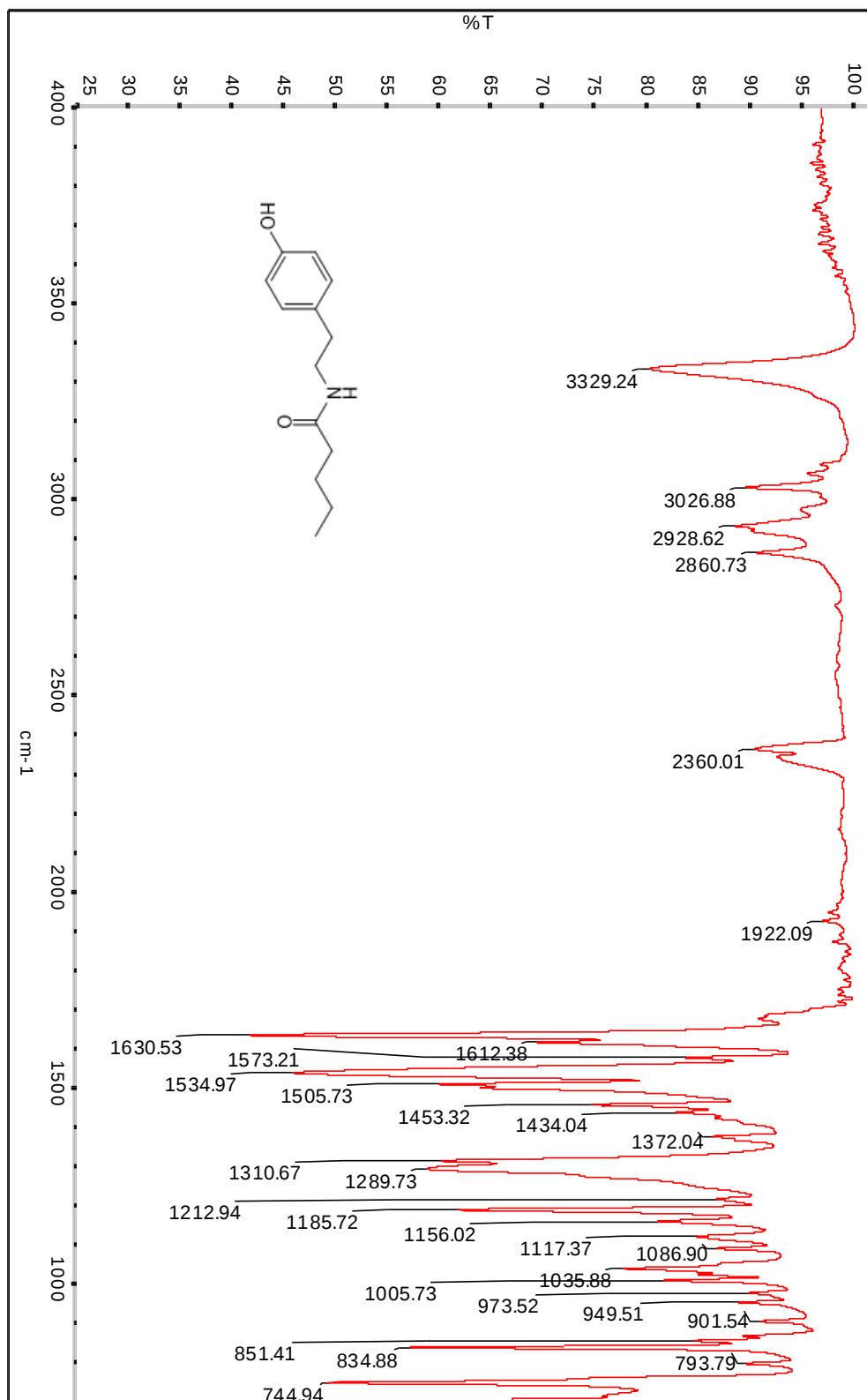


Anexos

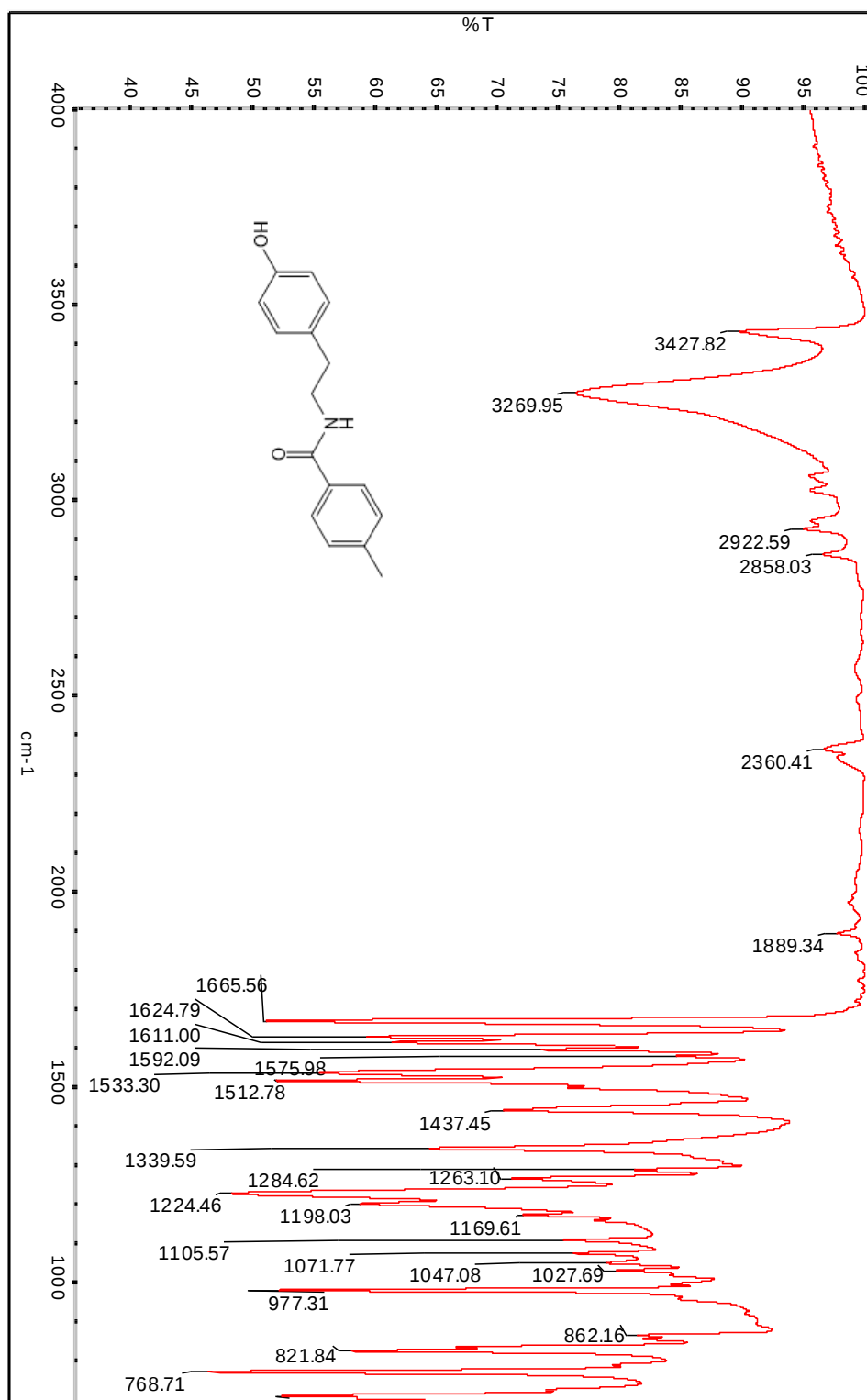
Anexo 1. Infrarrojo de compuesto Caps 1.



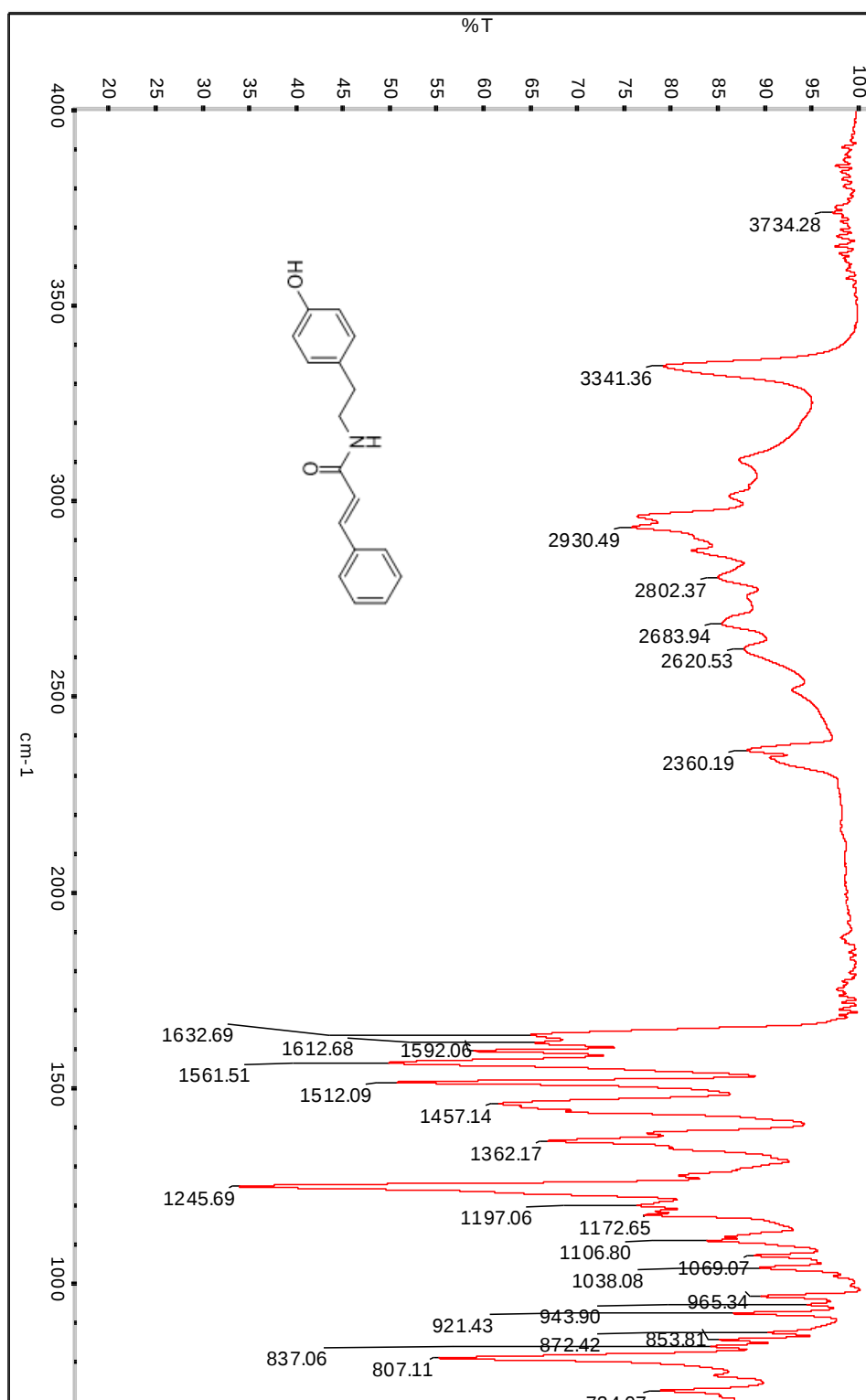
Anexo 2. Infrarrojo de compuesto Caps 2.



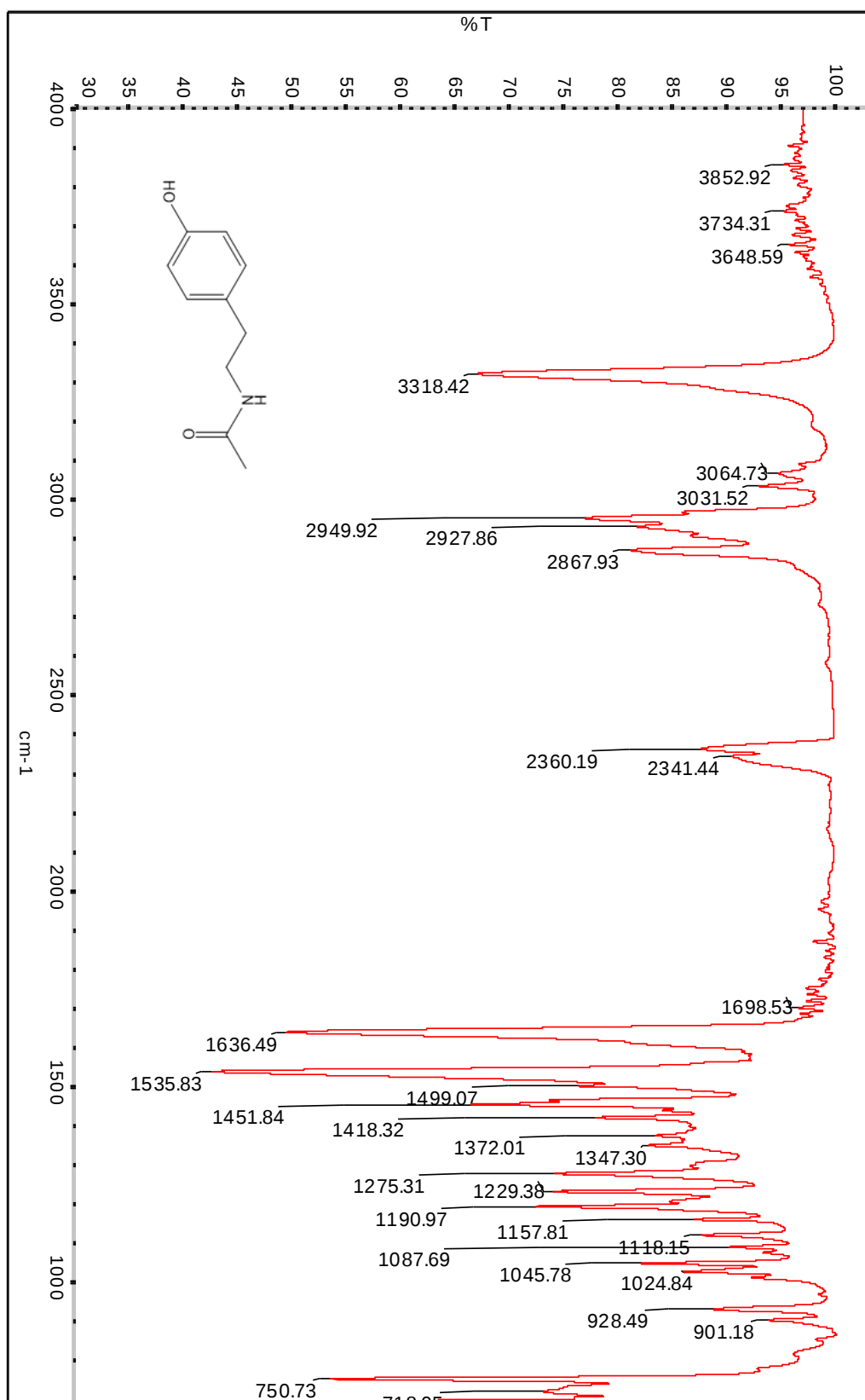
Anexo 3. Infrarrojo de compuesto Caps 3.



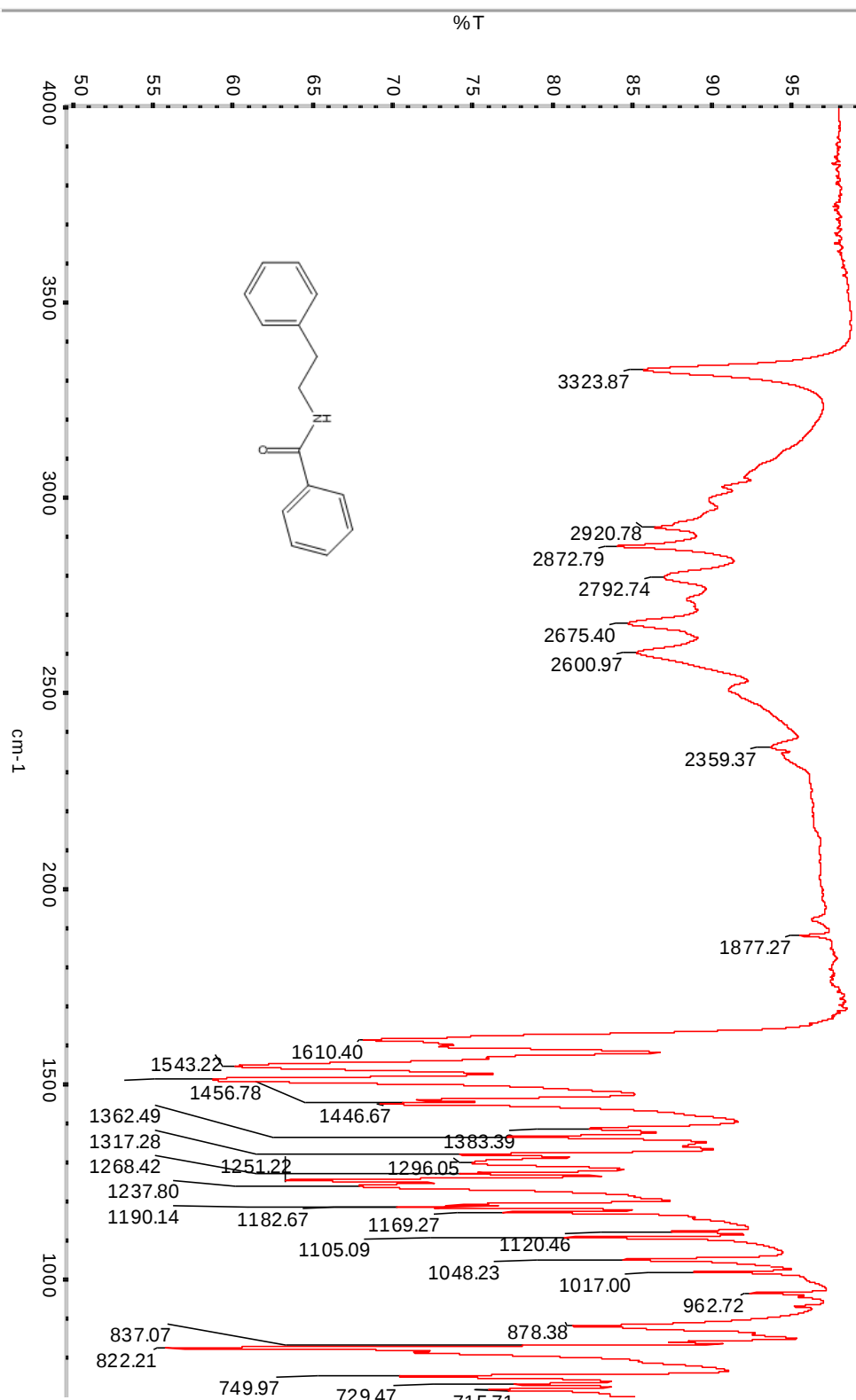
Anexo 4. Infrarrojo de compuesto Caps 4.



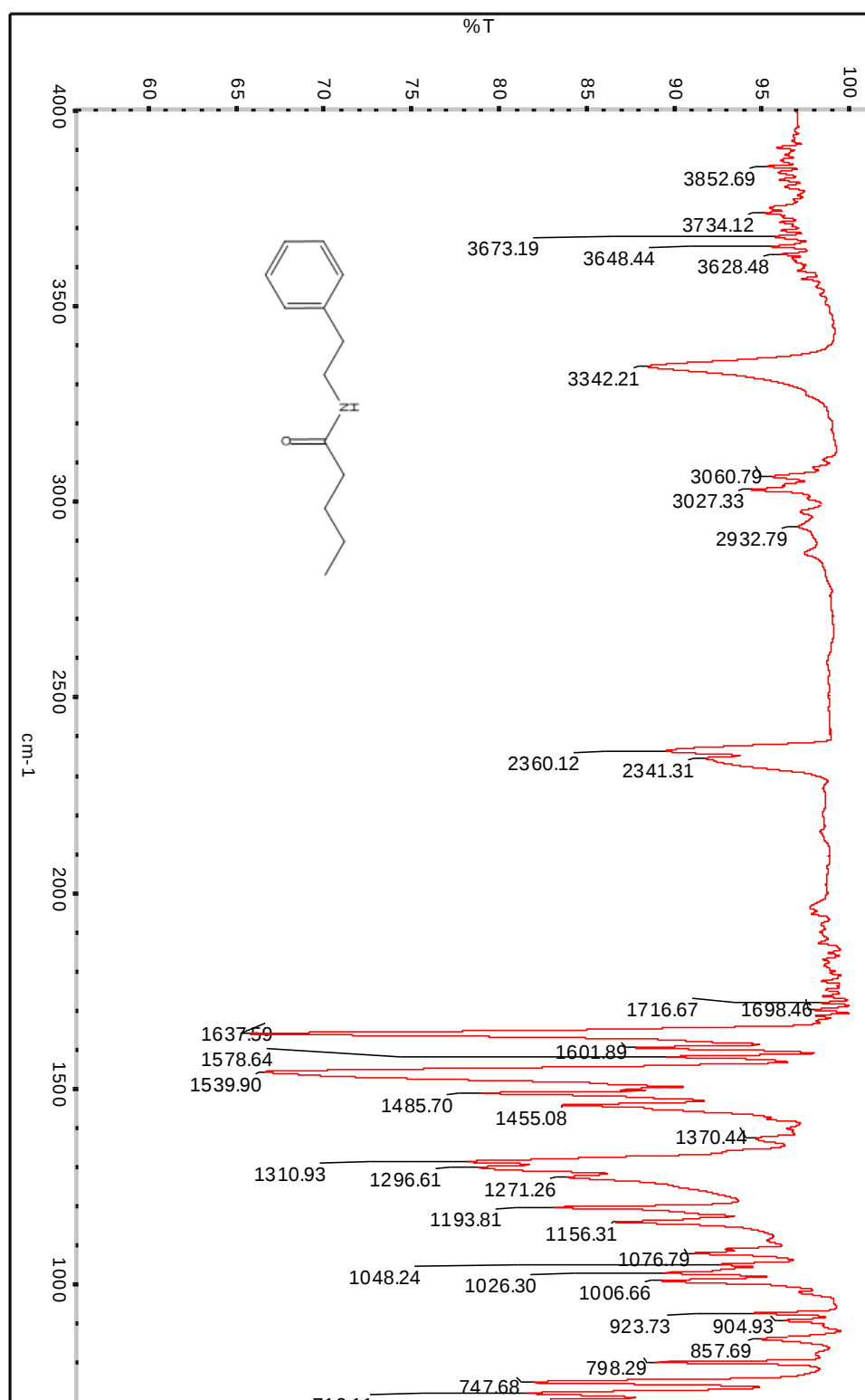
Anexo 5. Infrarrojo de compuesto Caps 5.



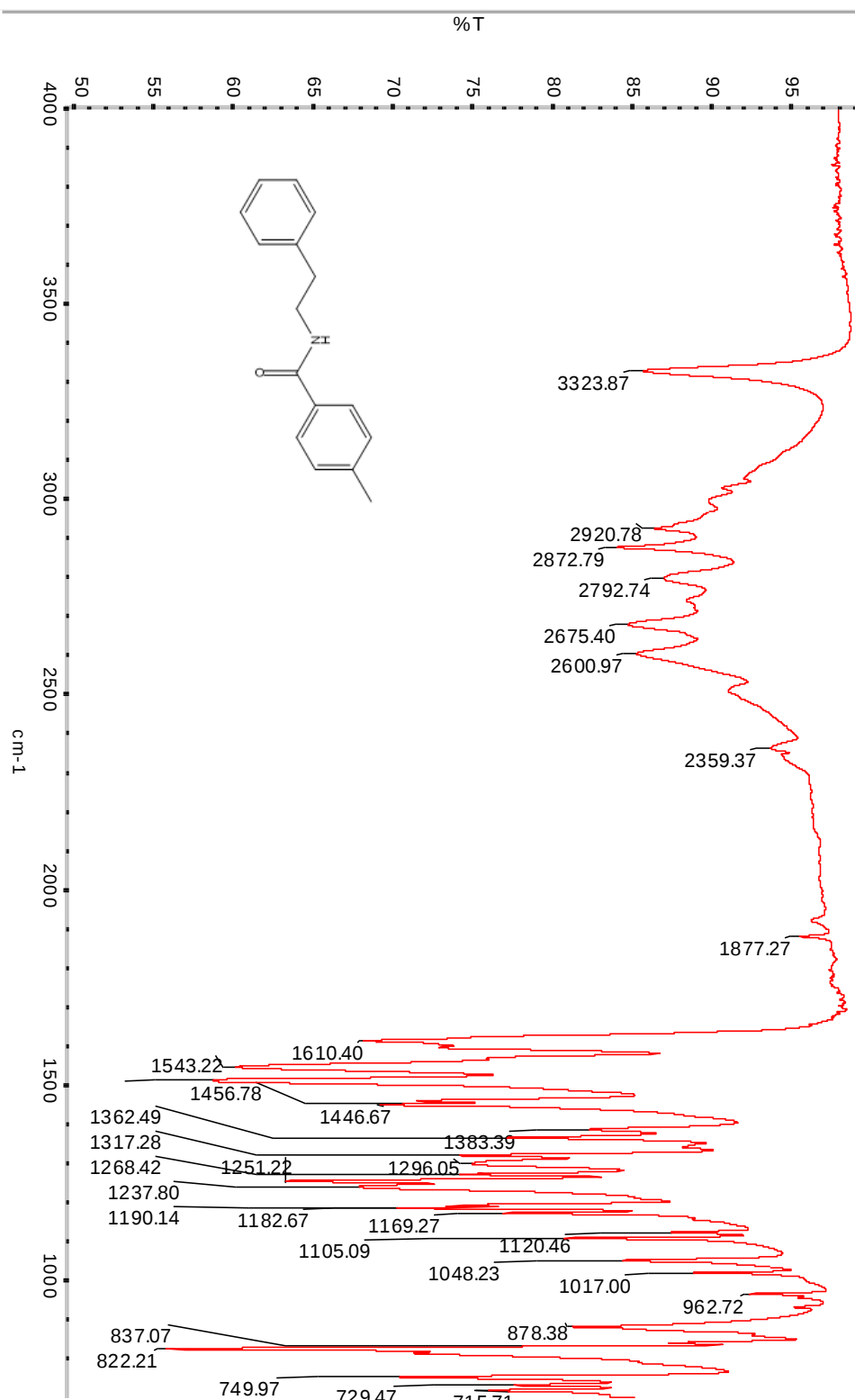
Anexo 6. Infrarrojo de compuesto Caps 6.



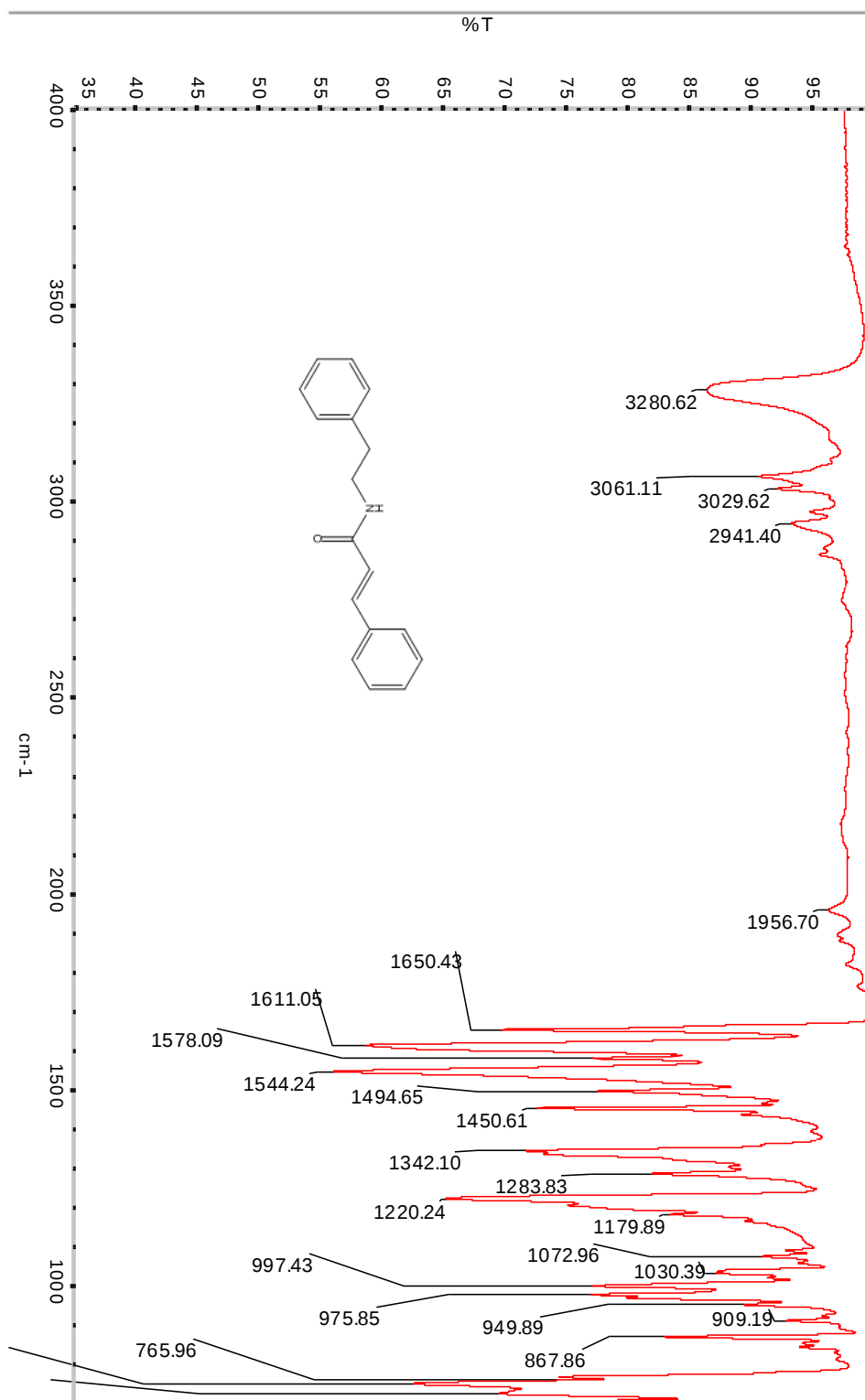
Anexo 7. Infrarrojo de compuesto Caps 7.



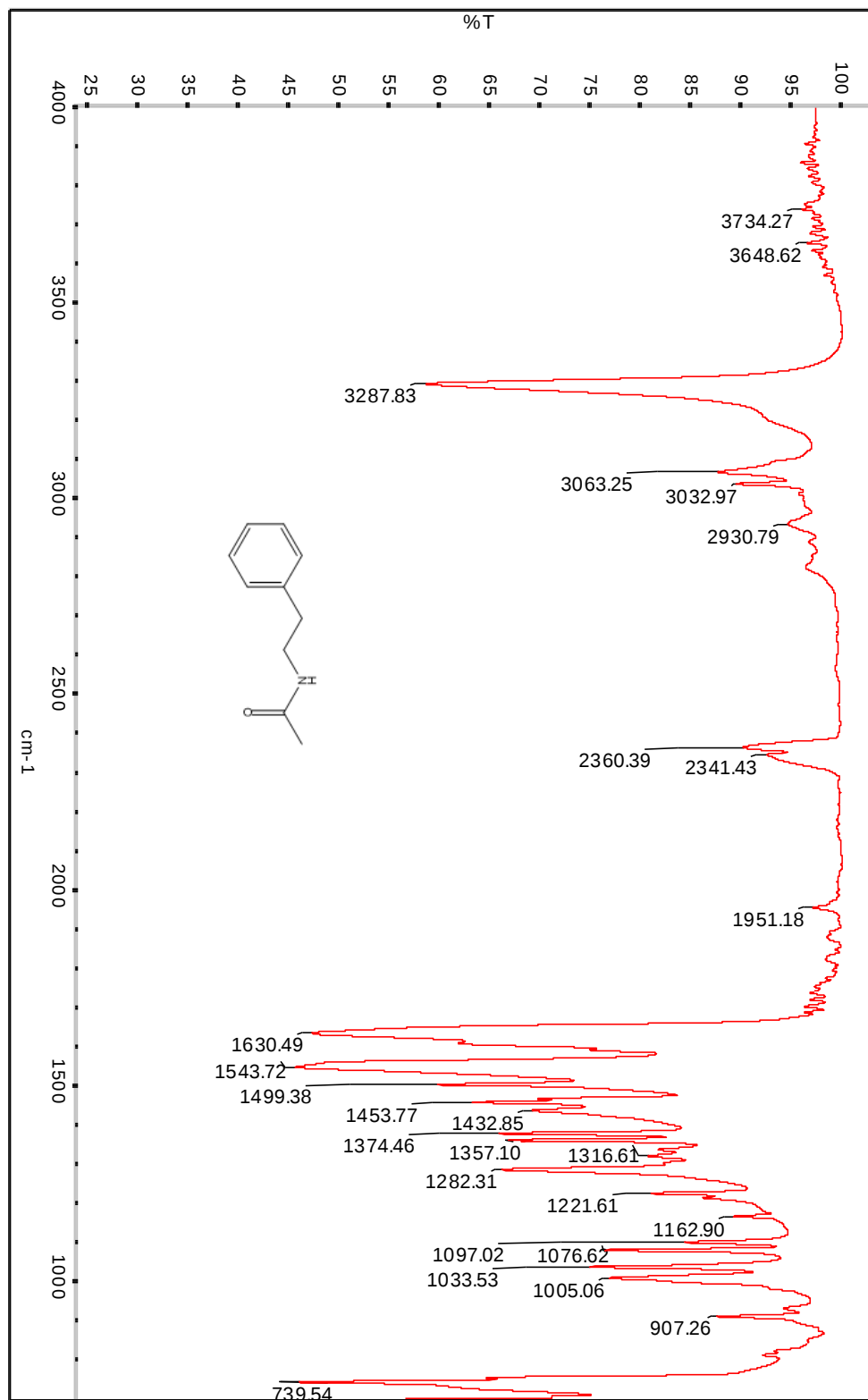
Anexo 8. Infrarrojo de compuesto Caps 8.



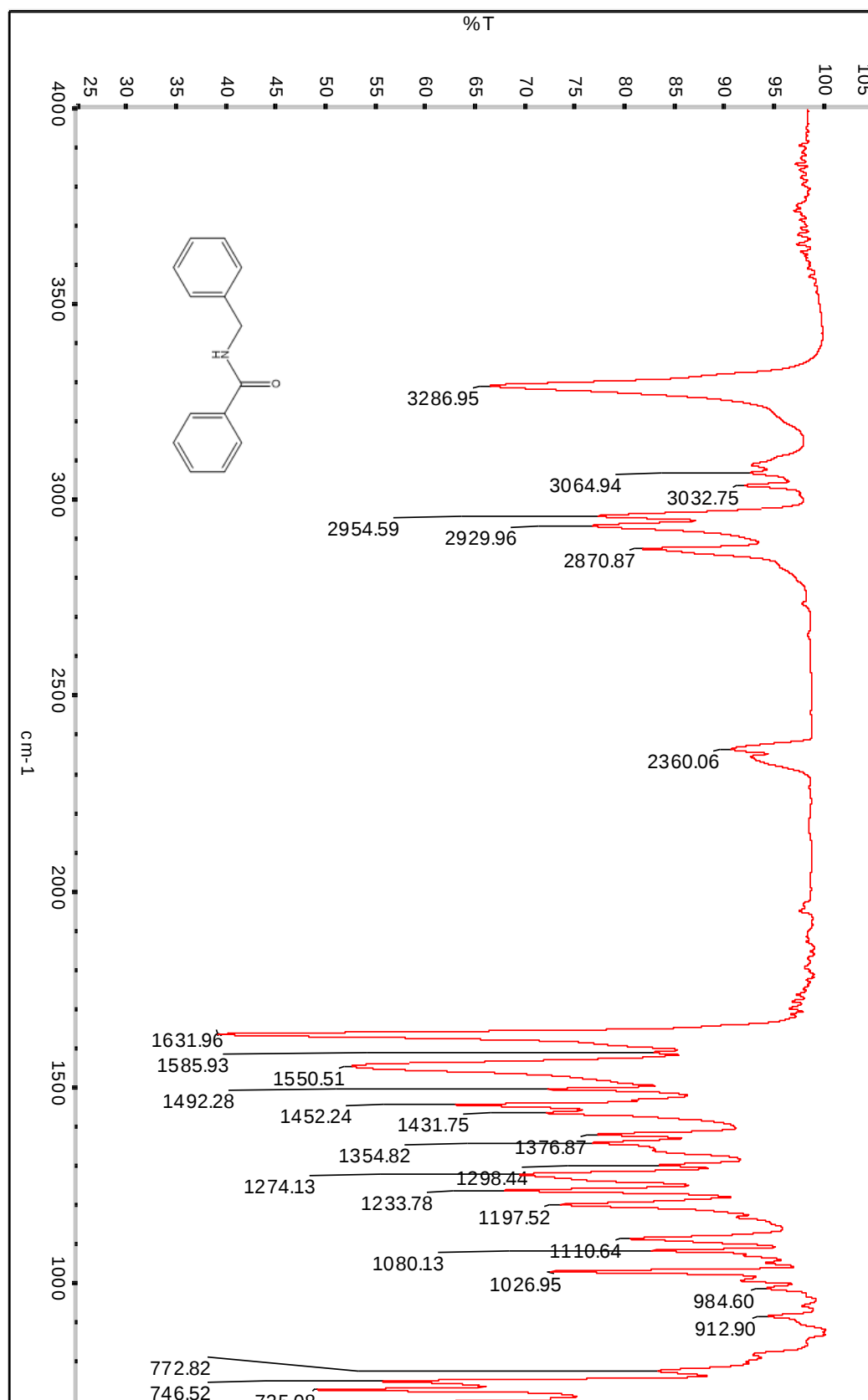
Anexo 9. Infrarrojo de compuesto Caps 9.



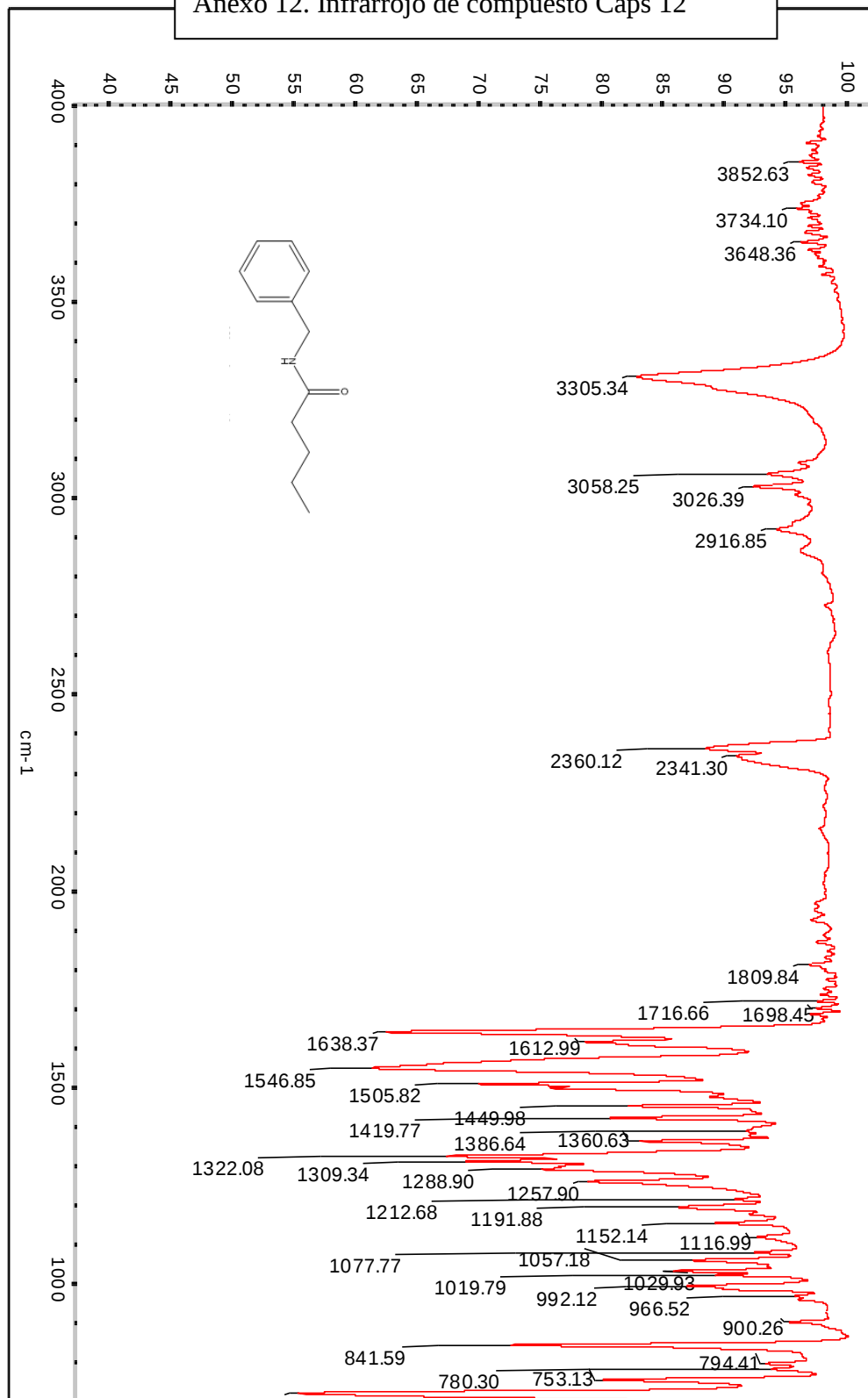
Anexo 10. Infrarrojo de compuesto Caps 10.



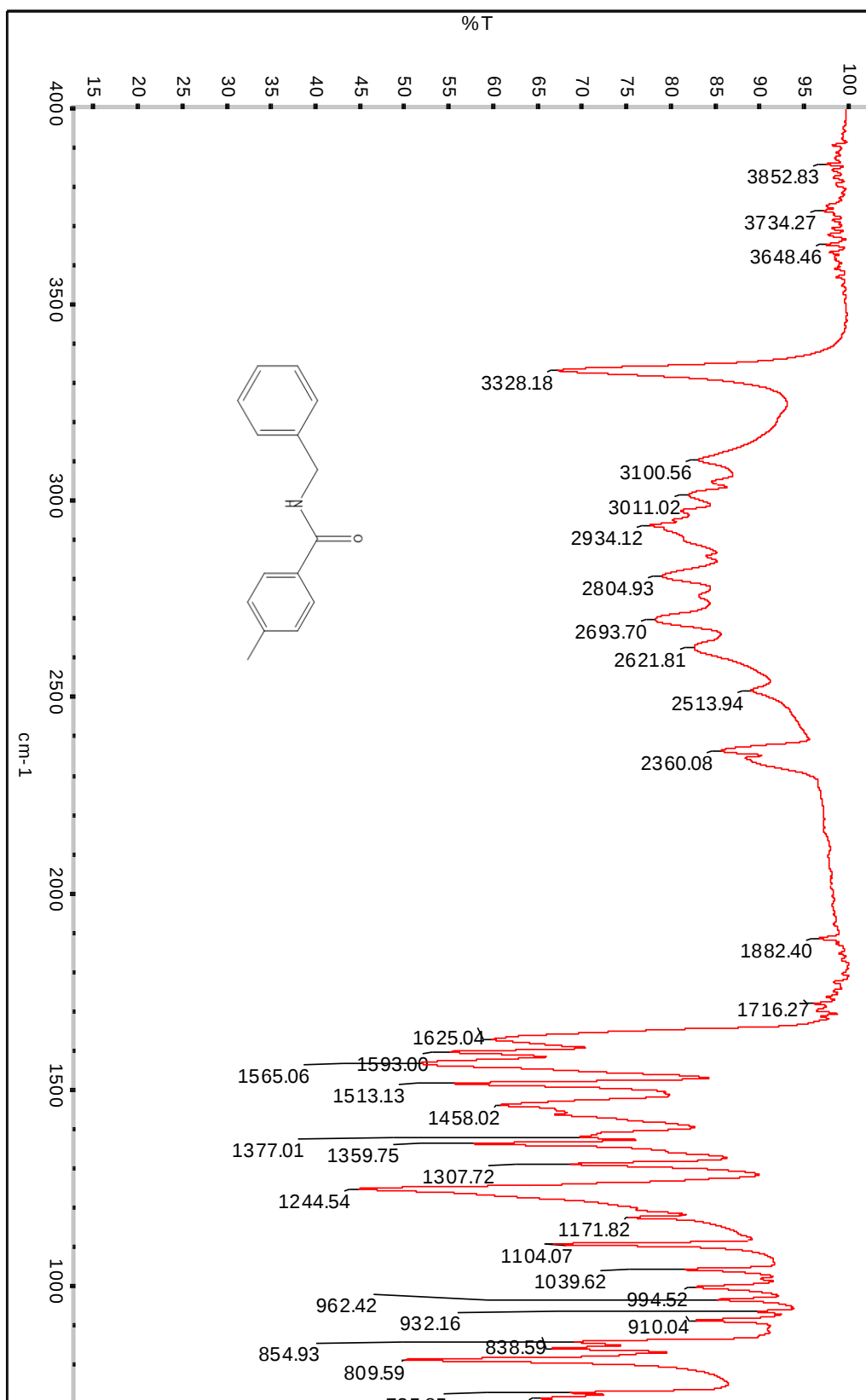
Anexo 11. Infrarrojo de compuesto Caps 11



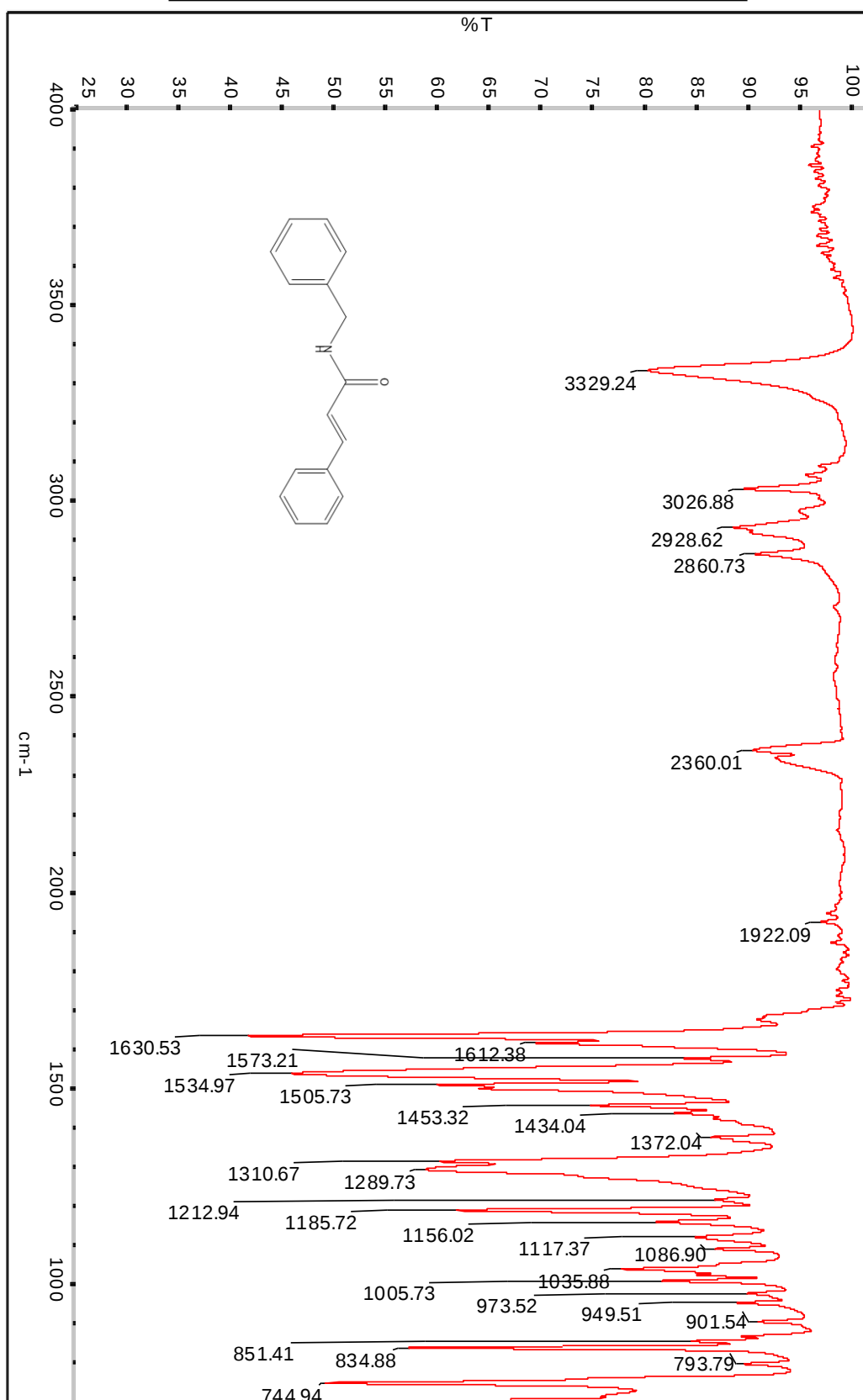
Anexo 12. Infrarrojo de compuesto Caps 12



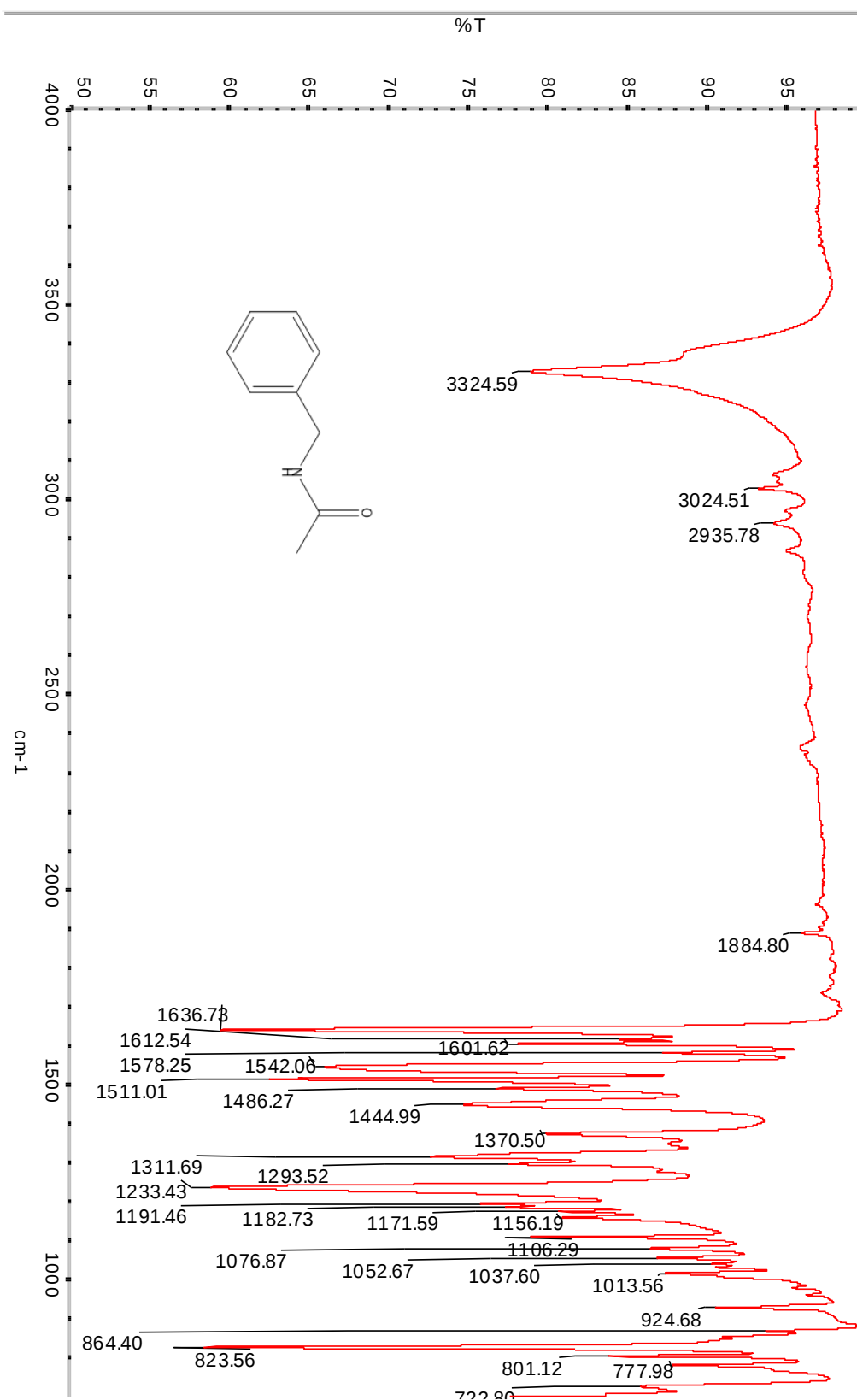
Anexo 13. Infrarrojo de compuesto Caps 13



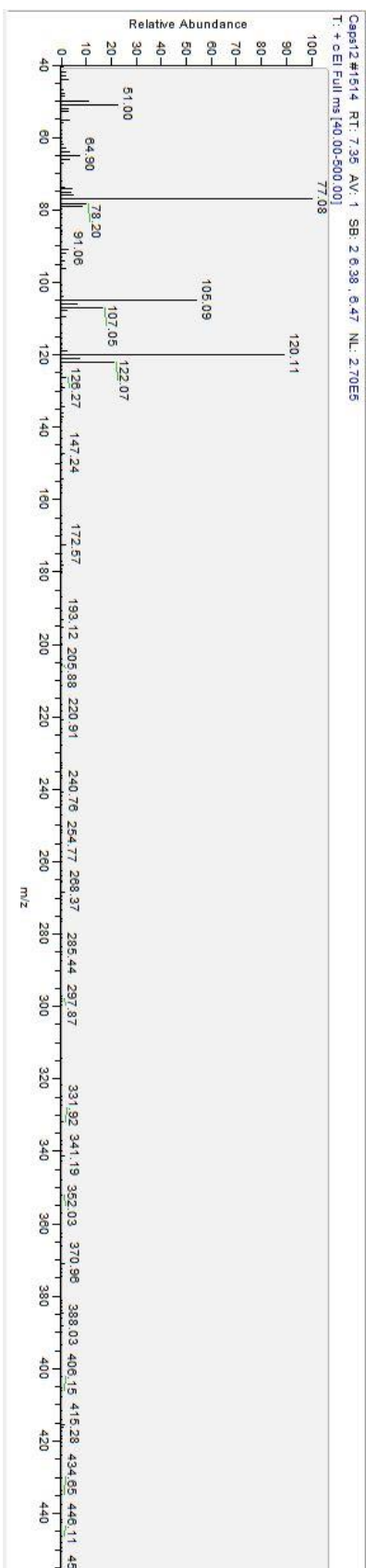
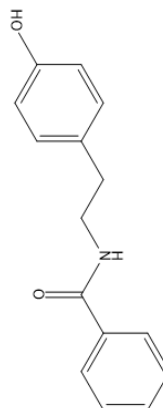
Anexo 14. Infrarrojo de compuesto Caps 14



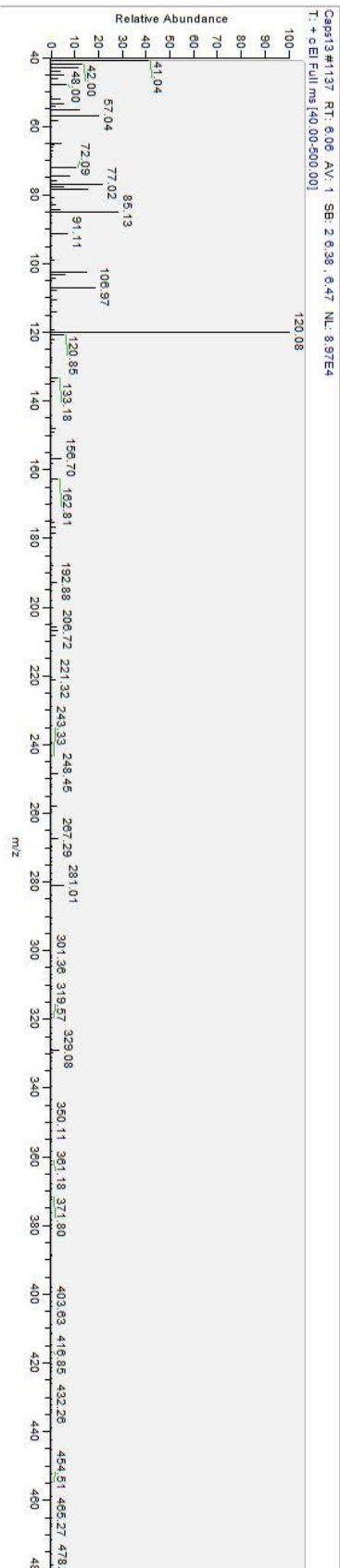
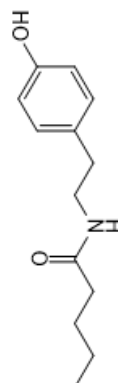
Anexo 15. Infrarrojo de compuesto Caps 15



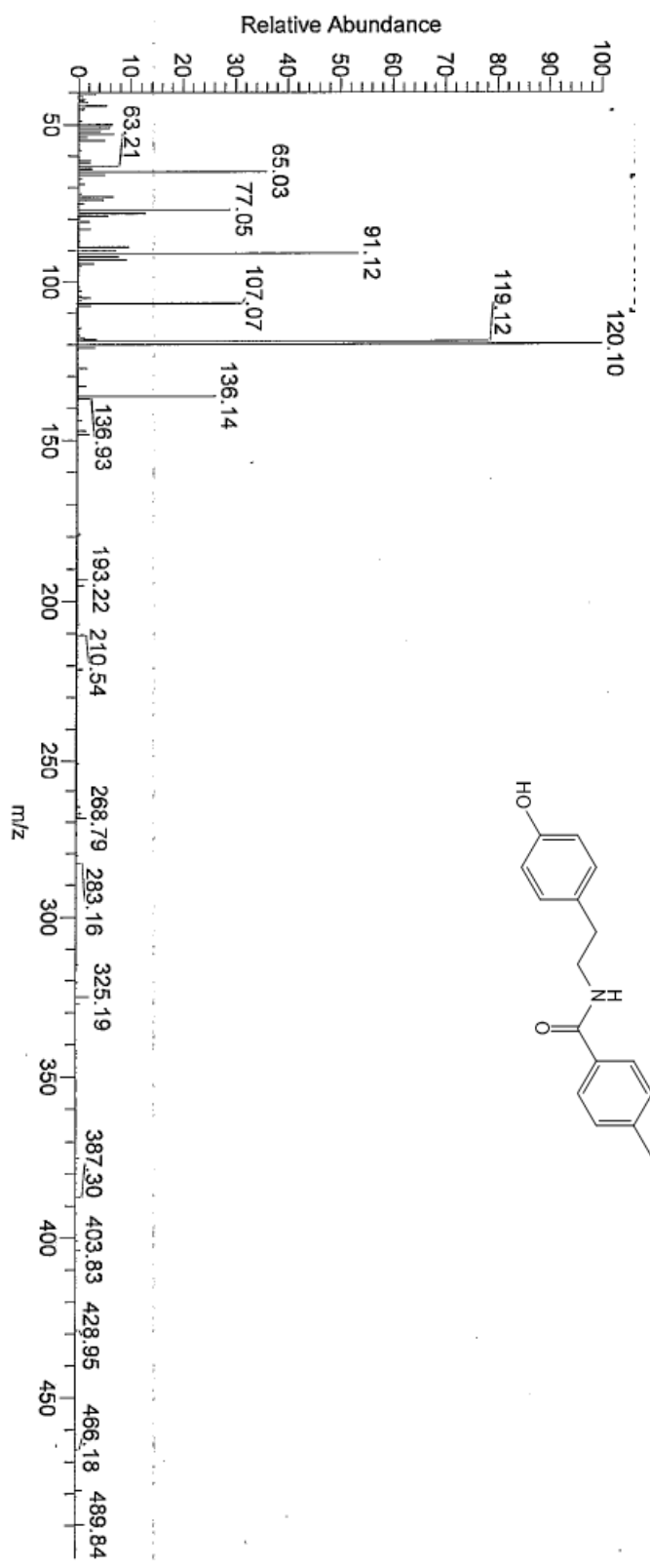
Anexo 16. Espectro de masas de compuesto Caps 1



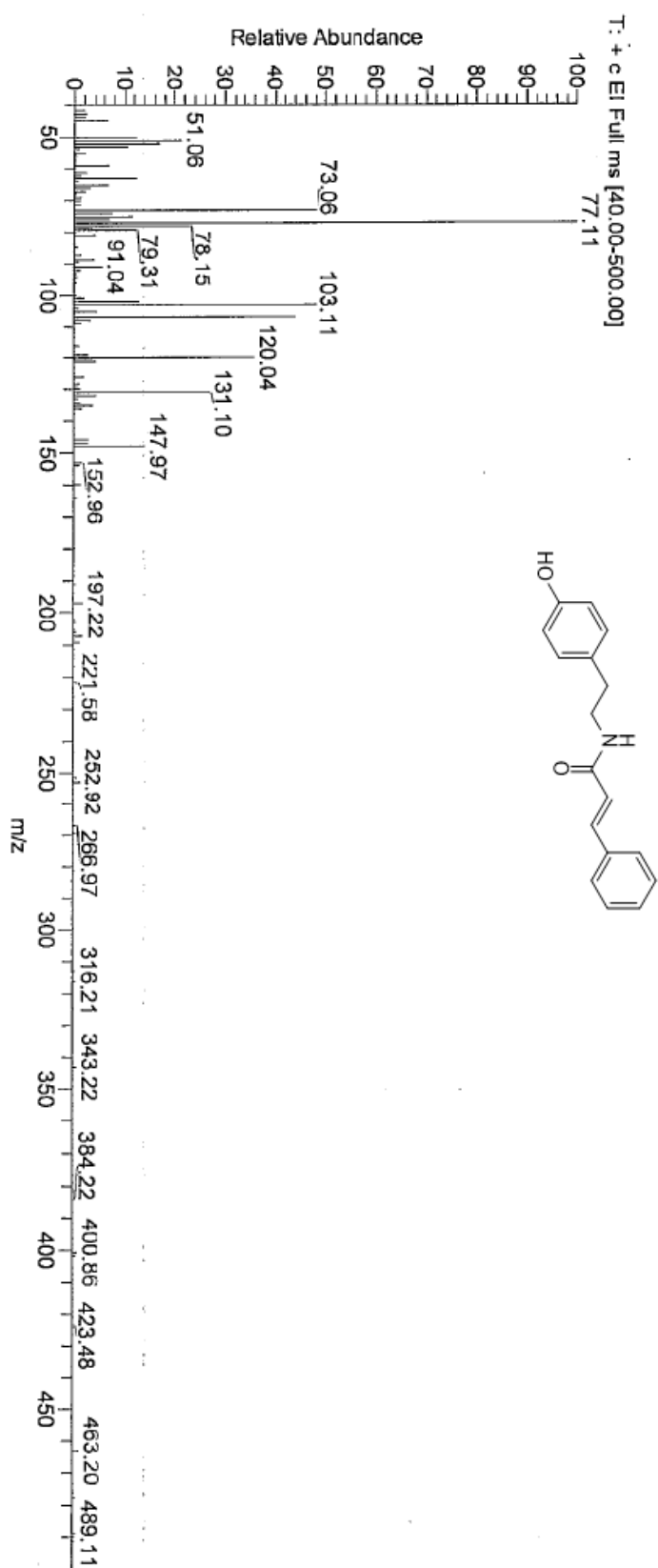
Anexo 17. Espectro de masas de compuesto Caps 2



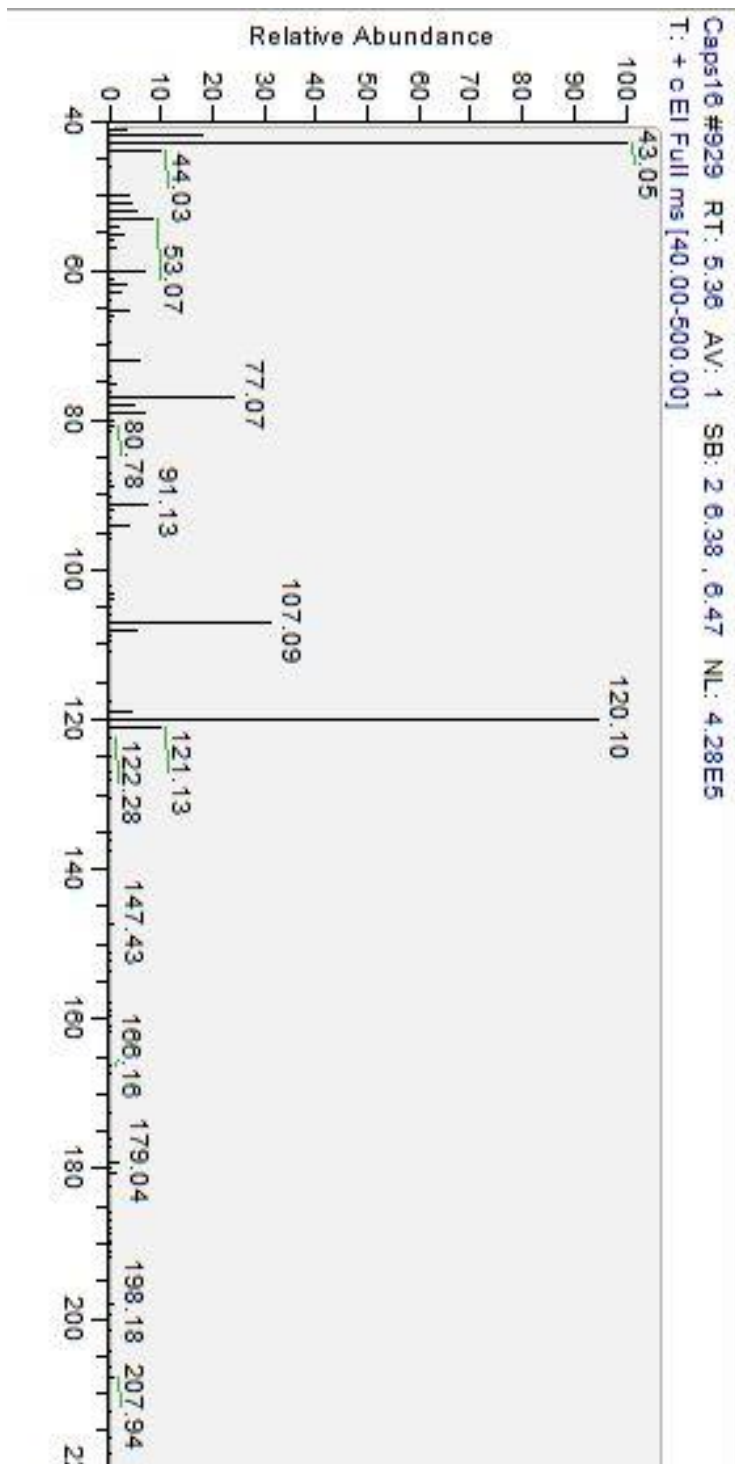
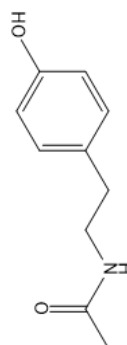
Anexo 18. Espectro de masas de compuesto Caps 3



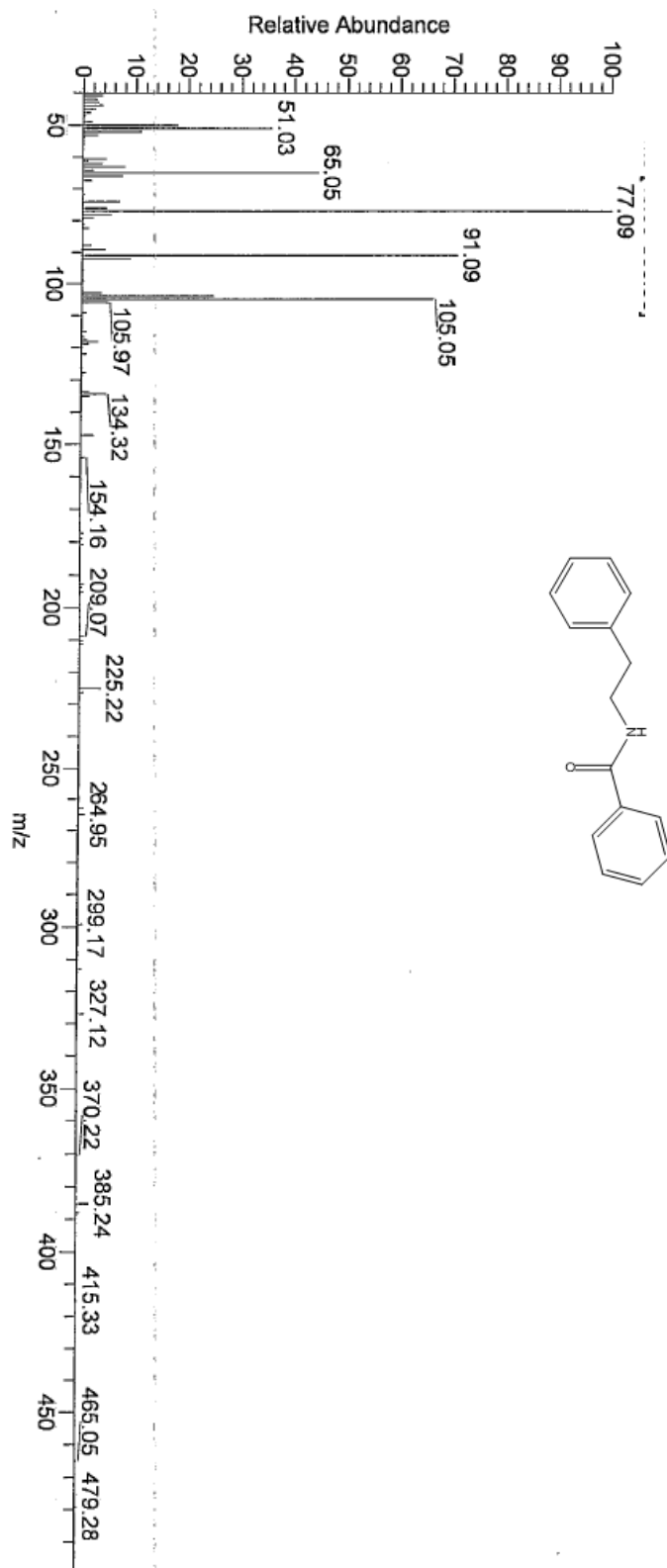
Anexo 19. Espectro de masas de compuesto Caps 4



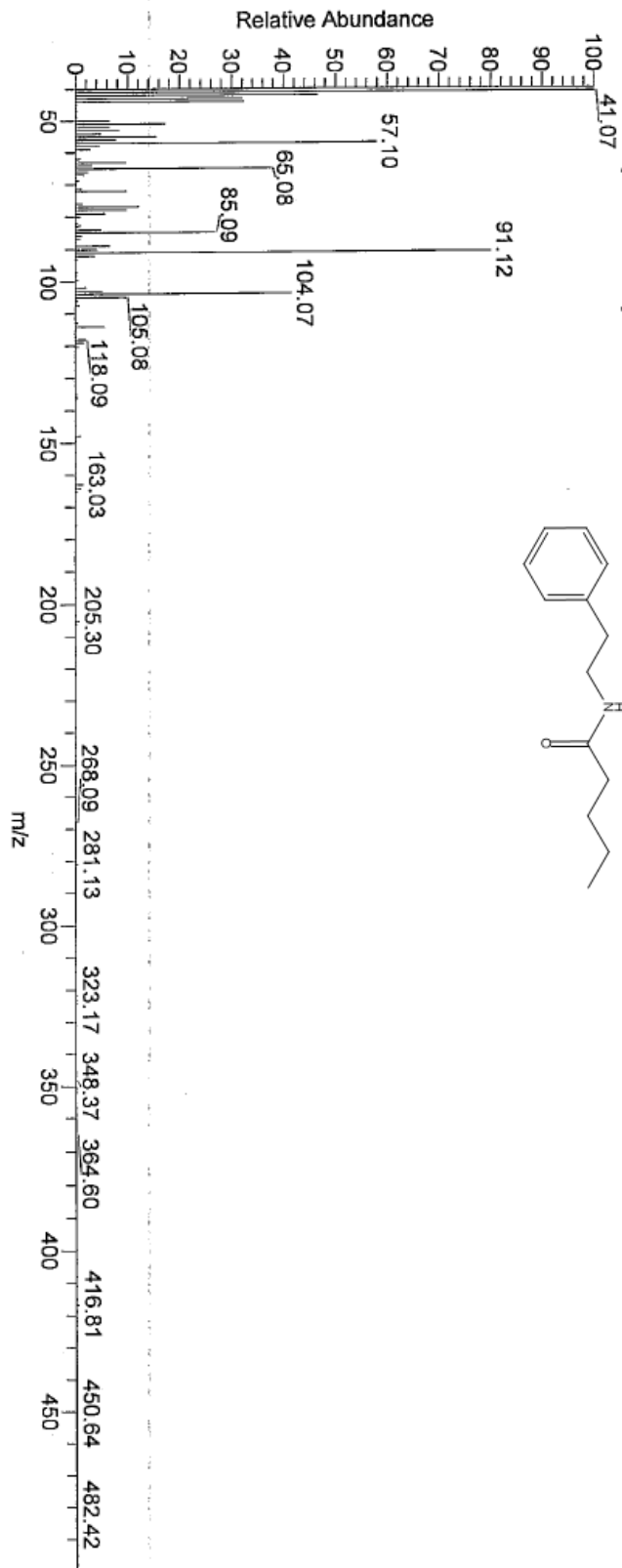
Anexo 20. Espectro de masas de compuesto Caps 5



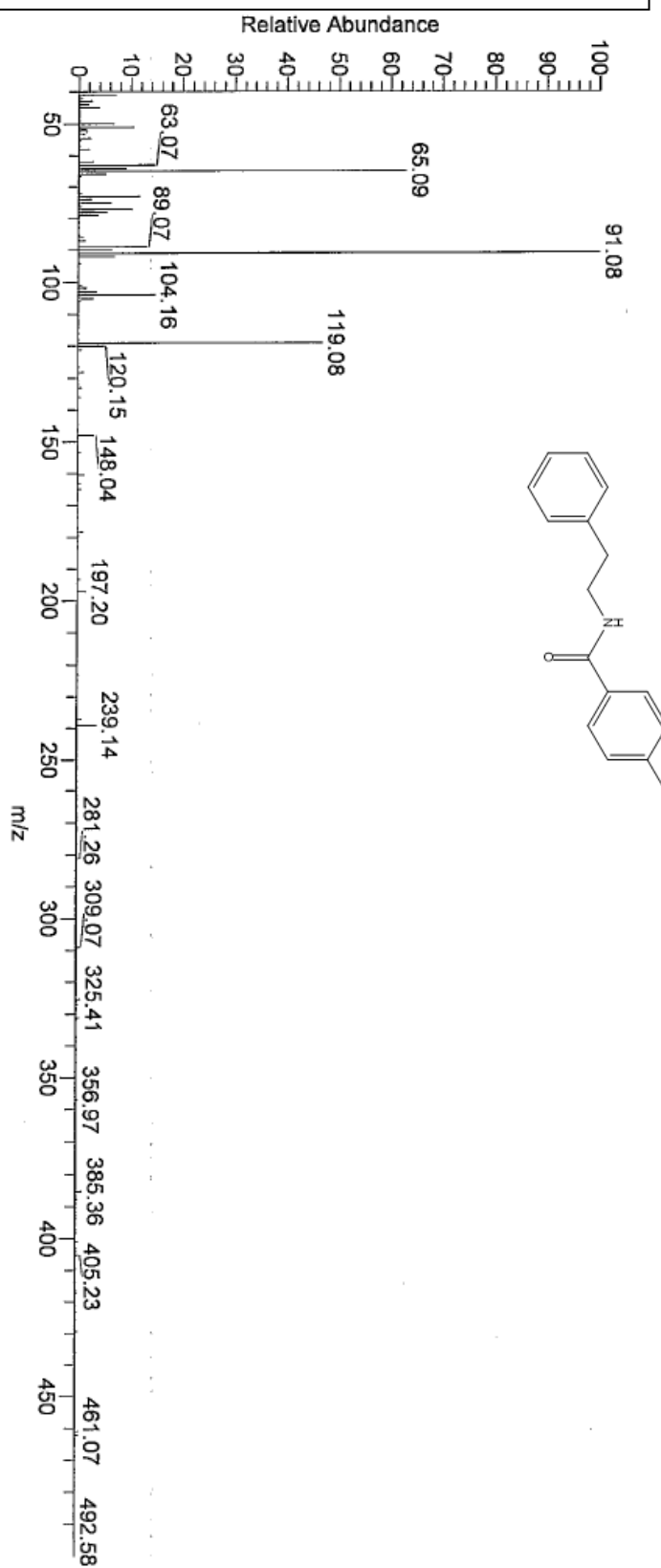
Anexo 21. Espectro de masas de compuesto Caps 6



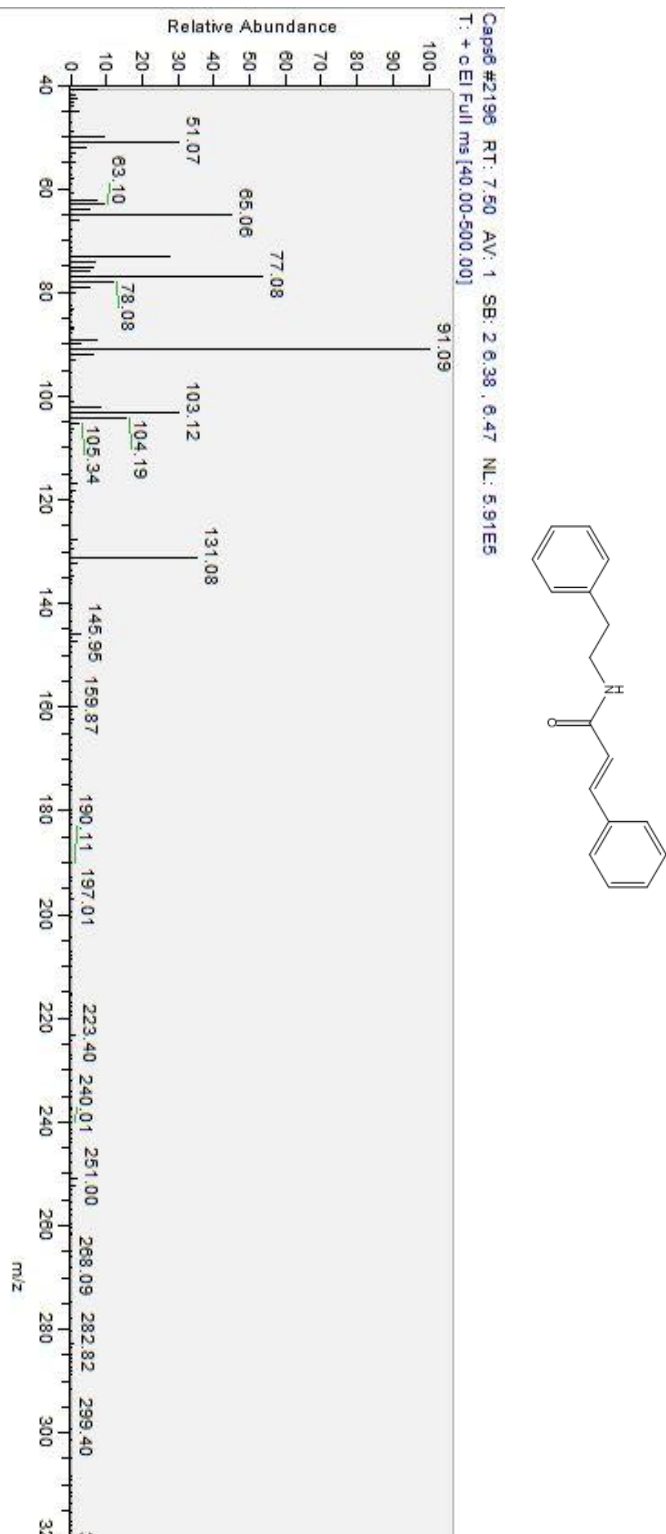
Anexo 22. Espectro de masas de compuesto Caps 7



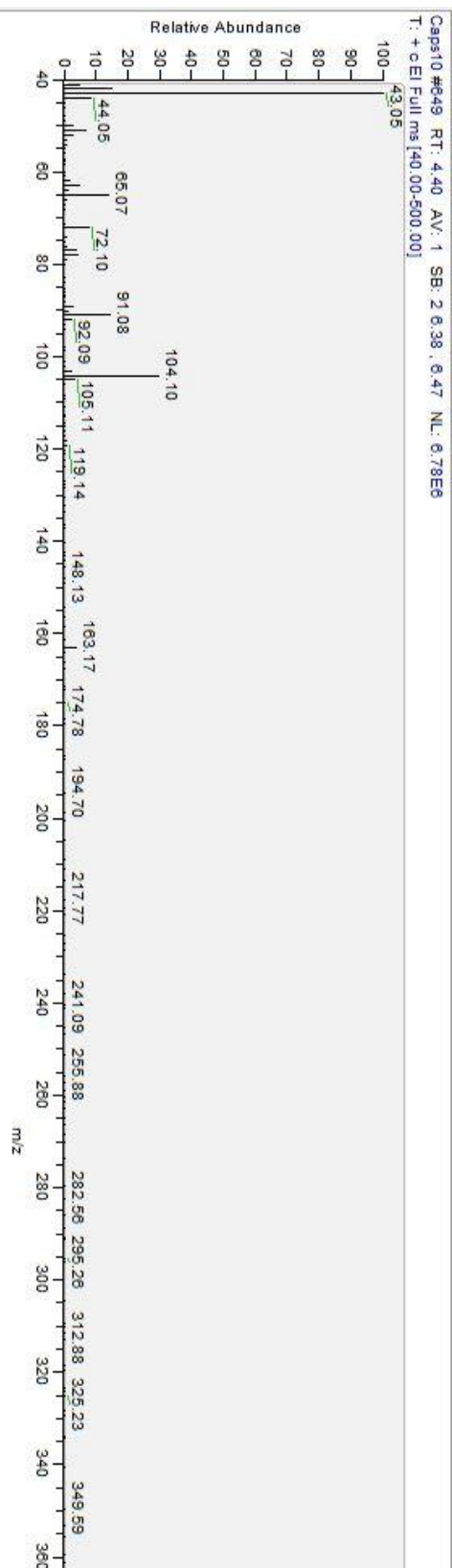
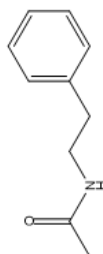
Anexo 23. Espectro de masas de compuesto Caps 8



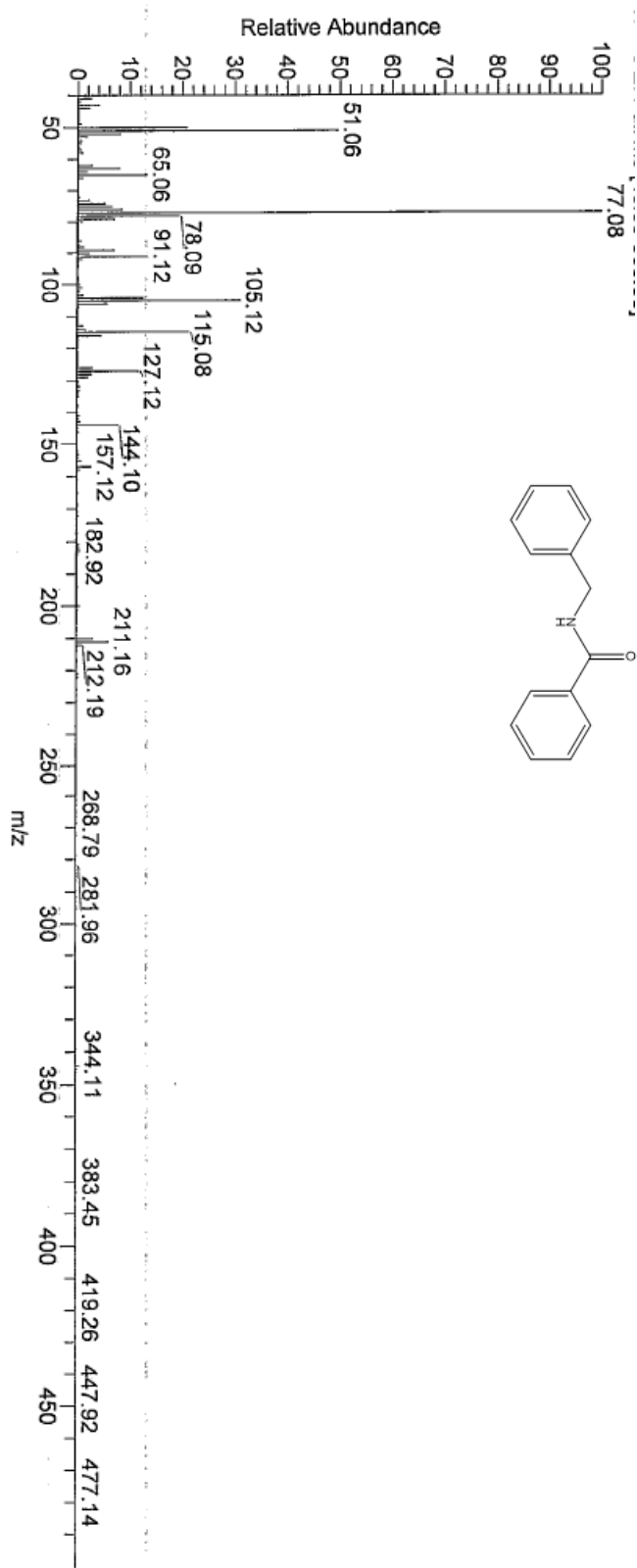
Anexo 24. Espectro de masas de compuesto Caps 9



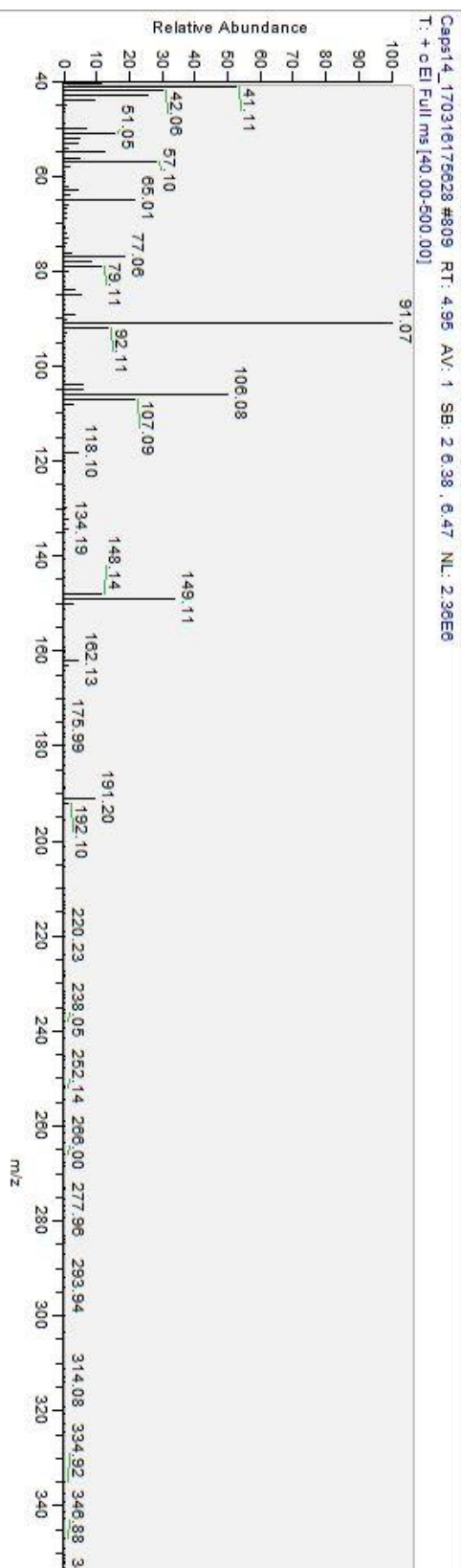
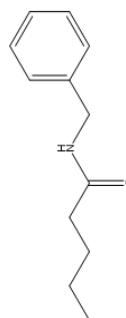
Anexo 25. Espectro de masas de compuesto Caps 10



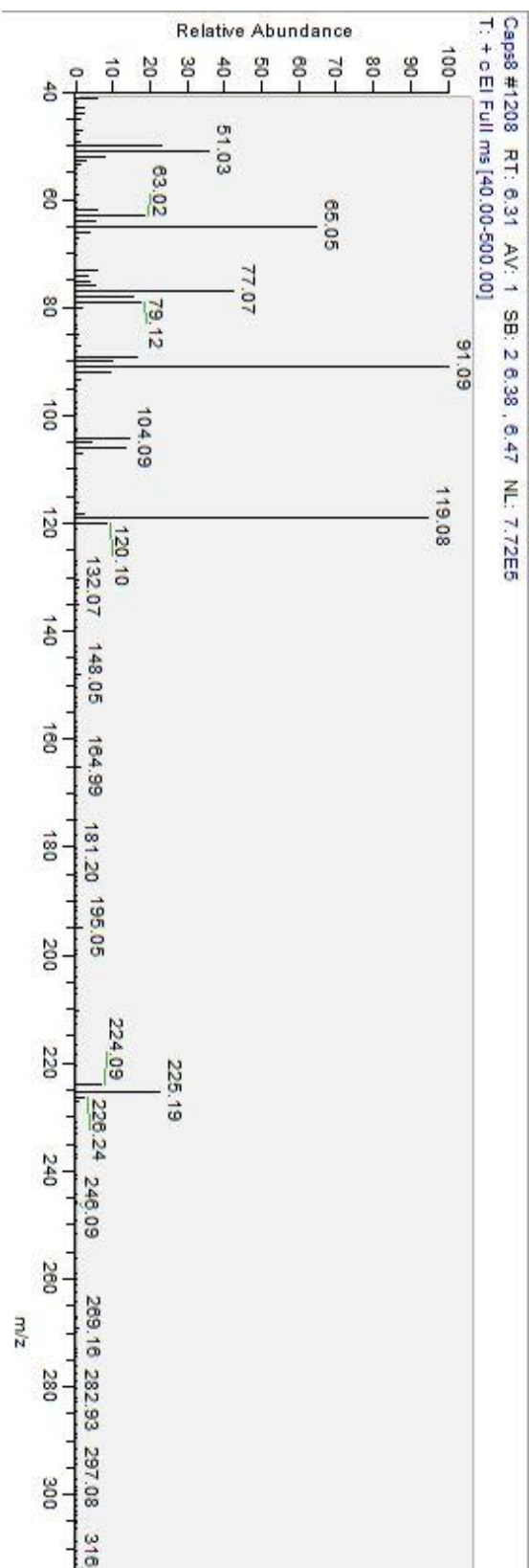
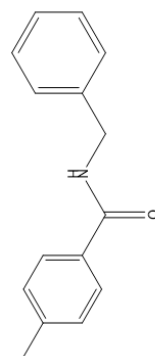
Anexo 26. Espectro de masas de compuesto Caps 11



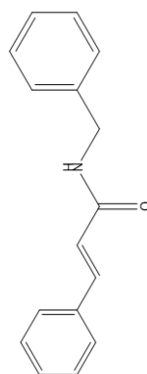
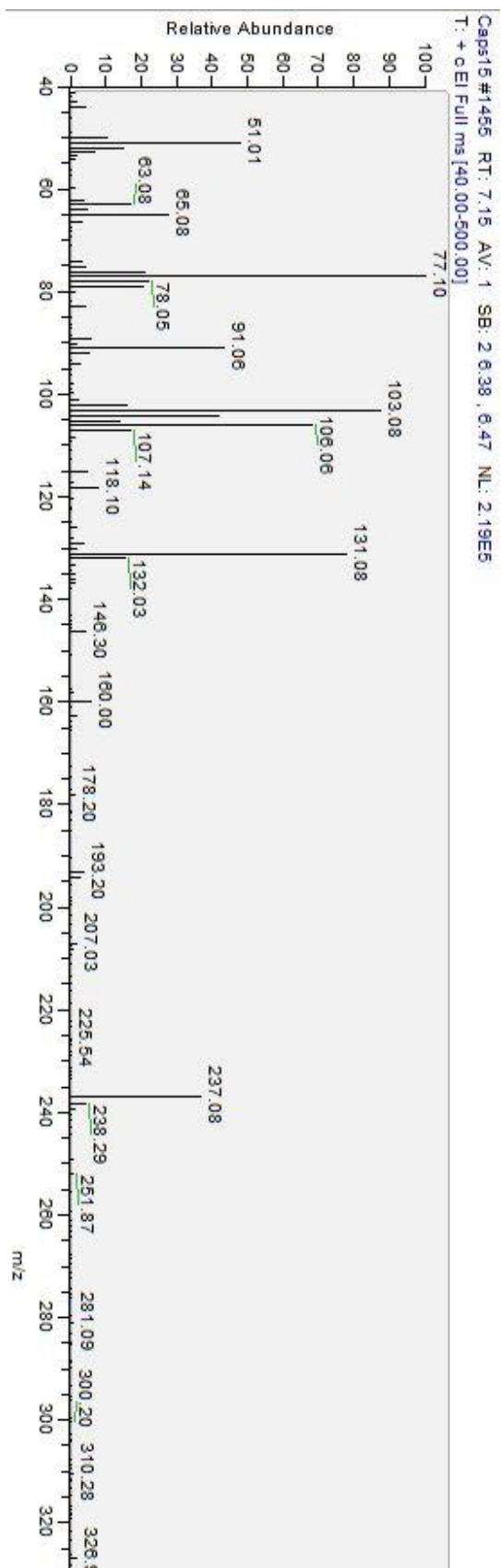
Anexo 27. Espectro de masas de compuesto Caps 12



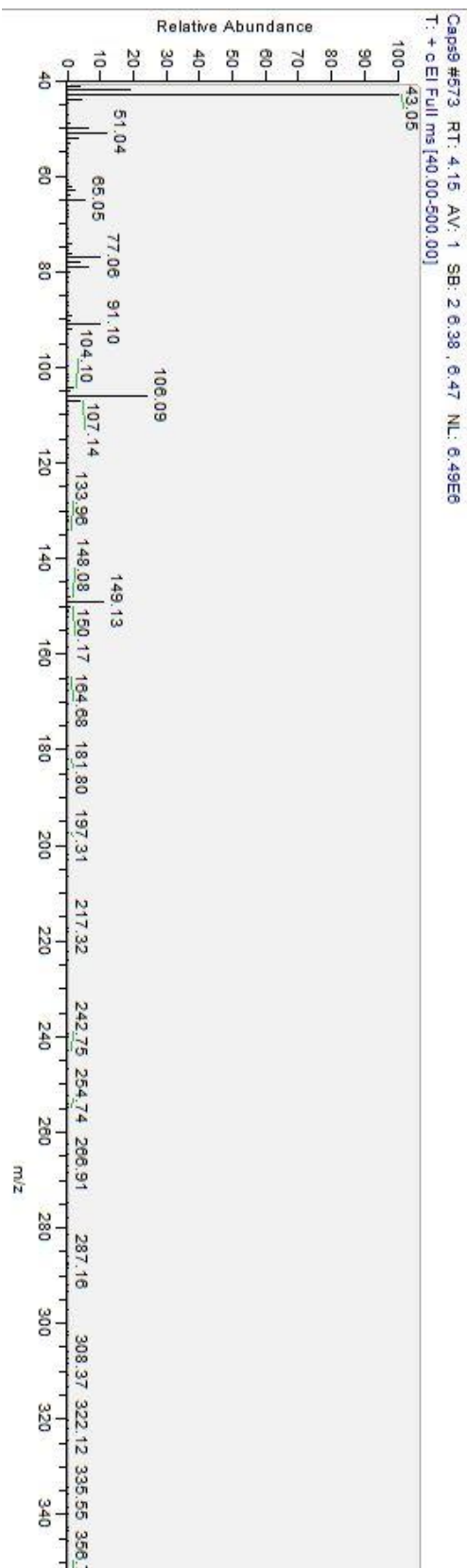
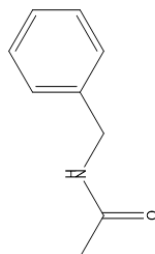
Anexo 28. Espectro de masas de compuesto Caps 13



Anexo 29. Espectro de masas de compuesto Caps 14



Anexo 30. Espectro de masas de compuesto Caps 15





Bibliografía

9. Bibliografía

1. Departamento de Biología Vegetal. (2009). Metabolismo secundario de plantas. Reduca (Biología). Serie Fisiología Vegetal., 3, 119-145.
2. Yordan Martínez Aguilar, I MSc. Fernando Soto Rodríguez. (2012). Metabolitos secundarios y actividad antibacteriana in vitro de extractos de hojas de *Anacardium occidentale* L. (marañón) . Revista Cubana de Plantas Medicinales, Vol. 17(4), 320-329 .
3. Alicia Beatriz Pomilio. (2012). Investigación en Química de Productos Naturales en Argentina: Vinculación con la Bioquímica. Acta bioquím. clín. latinoam, Vol. 46, 73-82.
4. Vieyle Cortez-Gallardo¹ , Juan P. Macedo-Ceja. (2004). Farmacognosia: breve historia de sus orígenes y su relación con las ciencias médicas.. Rev Biomed, Vol. 15, 123- 136.
5. Miguel F. Luis A. Del río. (2005). La verdadera historia de la Aspirina. An. R. Acad. Nac. Farm, 71, 813-819.
6. Xiu-Ju Luo, Jun Peng. (octubre 2010). Recent advances in the study on capsaicinoids and capsinoids. European Journal of Pharmacology, 650, 1-7.
7. Mark Hayman, Peter C.A. Kam. (2008). Capsaicin: A review of its pharmacology and clinical applications. Current Anaesthesia & Critical Care, 19, 338-343.
8. Moema Mocaiber Peralva , Olney Vieira. (2012). Antibacterial activity of *Capsicum annum* extract and synthetic capsaicinoid derivatives against *Streptococcus mutans*. Nat Med, 66, 354-356.
9. María Reyes-Escogido , Edith G. González. (2011). Chemical and Pharmacological Aspects of Capsaicin. molecules, 16, 1253-1270.

10. Conde Hernández . (2009). Extracción supercrítica de antioxidantes naturales a partir de hierbas y especias. Temas selectos de ingeniería de alimentos, 3, 96-110.
11. Shahein Basith, Minghua Cui. (julio 2016). Harnessing the Therapeutic Potential of Capsaicin and Its Analogues in Pain and Other Diseases. molecules, 21, 1-28.
12. Beatriz C. Nuñez, João Batista dos Santos. (junio 2013). Morfina como primer medicamento para el tratamiento del dolor de cáncer. ELSEVIER, 64, 236-240.
13. Rafael Gómez Aspe. (Junio 2016). Aislamiento de la morfina, 200 años de un descubrimiento fundamental para la química moderna. Real sociedad Española de Química, 102, 45-53.
14. Bárbara E. García TrianaI, Alberto Saldaña. (Jun 2013). El estrés oxidativo y los antioxidantes en la prevención del cáncer. Rev haban cienc méd, 12, 187-196.
15. Juan Diego Zamora. (Mar 2007). Antioxidantes: Micronutrientes en lucha por la salud. Rev Chil Nutr, 34, 17-26.
16. Bo Wang, Fan Yang. (Abril 2009). Highly efficient synthesis of capsaicin analogues by condensation of vanillylamine and acyl chlorides in a biphasic H₂O/CHCl₃ system. Tetrahedron, 65, 5409-5412.
17. Vicente Sánchez Villa. (2013). Estrés Oxidativo, antioxidantes y enfermedad. Invest Med Sur Mex, 3, 161-168.
18. Rosario M. Barrón-Yáñez. (2011). Flavonoides y actividad antioxidante de *Calia secundifl.* Fitotec, 34, 151-157.
19. Meléndez Martínez Antonio J.; VICARIO, Isabel M. y HEREDIA, Francisco J. Estabilidad de los pigmentos carotenoides en los alimentos. ALAN [online]. 2004, vol.54, n.2, pp. 209-215. ISSN 0004-0622.

20. P.W. Smith . (1969). Organic Chemistry for general degree students. Headinton Hill Hall
Oxford: Pergamon Press.
21. Joaquín Rodrigo García . (Abril 2011). Cuantificación de polifenoles y capacidad
antioxidante en duraznos comercializados en Ciudad Juárez, México. Tecnociencia, 5,
67-55.



Técnicas experimentales

10. Técnicas Experimentales

Técnicas espectroscópicas

- Espectroscopía de Infrarrojo: los espectros de IR fueron realizados en espectrofotómetros Thermo Scientific modelo Nicolet is5. Los valores de transmitancia (ν) están expresados en cm^{-1} .
- Espectroscopía de UV-Visible: las mediciones de absorbancia se realizaron en un espectrofotómetro Thermo Scientific modelo Genesys 20, en una celda de cuarzo de 10 mm. Los valores de absorbancia (λ) se expresan en nm.

Técnicas cromatográficas

- Cromatografía de Capa Fina, se emplearon placas FLUKA Analytical de 0.2 mm, usando como agente visualizador luz ultravioleta a 254 nm.
- Cromatografía de columna flash, se empleó sílica gel con tamaño de partícula de 0.04-0.063 mm y de 0.063-0.200 mm de marca MERCK. La preparación de las columnas consistió en el empaquetado con una mezcla de sílica gel y n-hexano, a la que posteriormente se le adicionaba en la parte superior el crudo de reacción por purificar. Los eluyentes habituales fueron mezclas de n- Hex/AcOEt en distintas proporciones.

- Técnica de ionización por impacto electrónico, utilizando un cromatógrafo de Gases Thermo Scientific modelo TRACE 1310 acoplado a un espectrómetro de masas de cuadrupolo sencillo Thermo Scientific modelo ISQ LT. La temperatura del horno fue de 120°C y la de la fuente de iones 240°C. La rampa de calentamiento de la columna comenzó a 120°C manteniendo esta temperatura 1 minuto, para subir a una velocidad de 40°C/min hasta 280°C, y manteniendo esta temperatura 10 minutos.

Software

- Se empleó el programa ChemBioDraw Ultra 14.0 de Perkin Elmer para otorgarle los nombres sistemáticos a los productos sintetizados.