



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA  
DE MÉXICO

---

---

FACULTAD DE QUÍMICA

**SÍNTESIS DE RESORCINAREN-  
DENDRÍMEROS CONJUGADOS CON  
CLORAMBUCILO**

TESIS

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE  
QUÍMICA

PRESENTA:

Sonia Mendoza Cardozo

ASESOR:

Dr. Marcos Martínez García



Ciudad Universitaria, Cd. Mx, 2018



Universidad Nacional  
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

**Biblioteca Central**



**UNAM – Dirección General de Bibliotecas**  
**Tesis Digitales**  
**Restricciones de uso**

**DERECHOS RESERVADOS ©**  
**PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL**

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

**JURADO ASIGNADO:**

**PRESIDENTE:**                   **Profesor: Ana Adela Sánchez Mendoza**

**VOCAL:**                           **Profesor: Simón Hernández Ortega**

**SECRETARIO:**               **Profesor: Marcos Martínez García**

**1er. SUPLENTE:**               **Profesor: Martha Menes Arzate**

**2° SUPLENTE:**               **Profesor: José Oscar Humberto Pérez Díaz**

**SITIO DONDE SE DESARROLLÓ EL TEMA: LABORATORIO 6-C,  
INSTITUTO DE QUÍMICA, UNAM.**

**ASESOR DEL TEMA:**

\_\_\_\_\_

**Dr. Marcos Martínez García**

**SUSTENTANTE:**

\_\_\_\_\_

**Sonia Mendoza Cardozo**

# ***Agradecimientos***

A la Universidad Nacional Autónoma de México y a la facultad de química, por ser mi casa de estudio.

Al Dr. Marcos Martínez García, por las enseñanzas y el apoyo brindado.

Al CONACYT por la beca otorgada (No. De becario 25550).

A la DGAPA (UNAM) proyecto IN 101117.

Al CONACyT proyecto No. 220675

Al H. jurado, Ana Adela Sánchez Mendoza, Simón Hernández Ortega, Martha Menes Arzate y José Oscar Humberto Pérez Díaz por sus observaciones y correcciones para la versión final del presente trabajo.

Al instituto de química por permitirme el acceso a sus instalaciones y poder realizar los experimentos necesarios para realizar el trabajo experimental. De igual manera, a los técnicos por las facilidades y el apoyo brindado.

- M. en C. Elizabeth Huerta Salazar
- Q. María de los Ángeles Peña González
- M. en C. Héctor Ríos Olivares
- Q.F.B. María del Rocío Patiño Maya
- M. en C. Lucía del Carmen Márquez Alonso
- M. en C. Lucero Mayra Ríos Ruiz
- M. en C. Antonio Nieto Camacho
- M. en C. María Teresa Obdulia Ramírez Apan

## TABLA DE CONTENIDO

LISTA DE ABREVIATURAS .....	<i>j</i>
<b>1. INTRODUCCIÓN.....</b>	<b>3</b>
<b>2. ANTECEDENTES.....</b>	<b>5</b>
2.0.0. EL CÁNCER .....	5
2.0.1. <i>Quimioterapia</i> .....	5
2.0.2. <i>Leucemia</i> .....	6
2.0.3. <i>Tipos de leucemia</i> .....	7
2.0.4. <i>Factores de riesgo</i> .....	10
2.0.5. <i>Fármacos utilizados para el tratamiento contra la leucemia linfática crónica</i> .....	11
2.1.0. CLORAMBUCILO .....	12
2.1.1. <i>Síntesis de clorambucilo</i> .....	14
2.1.2. <i>Síntesis de conjugados de clorambucilo</i> .....	17
2.2.0. CALIXARENOS .....	19
2.3.0. RESORCINARENOS .....	20
2.3.1. <i>Propiedades de los resorcinarenos</i> .....	21
2.3.2. <i>Conformaciones de los resorcinarenos</i> .....	21
2.3.3. <i>Síntesis de resorcinarenos</i> .....	22
2.3.4.0. <i>Síntesis de derivados de los resorcinarenos</i> .....	24
2.3.4.1. <i>Síntesis de resorcinaren-dendrímeros</i> .....	24
2.4.0. DENDRÍMEROS.....	26
2.4.1. <i>La estructura de los dendrímeros</i> .....	26
2.4.2. <i>Métodos de síntesis (divergente y convergente)</i> .....	27
2.4.3. <i>Propiedades de dendrímeros</i> .....	29
2.4.4. <i>Dendrímeros de poli(amidoamina) (PAMAM)</i> .....	30
2.4.5. <i>Los dendrímeros y el cáncer</i> .....	31
2.4.6. <i>Aplicaciones de los dendrímeros tipo PAMAM en la nanomedicina</i> .....	32
2.5.0. CONJUGADOS DENDRIMÉRICOS .....	32
2.5.1. <i>Conjugación covalente de moléculas de fármaco con los grupos terminales de un dendrímero</i> ..	34
<b>3. OBJETIVOS E HIPÓTESIS .....</b>	<b>37</b>
3.1. OBJETIVO GENERAL.....	37
3.2. OBJETIVOS PARTICULARES .....	37
3.3. HIPÓTESIS.....	37
<b>4. MATERIAL Y EQUIPOS .....</b>	<b>39</b>
4.1. EQUIPOS.....	39
4.2. REACTIVOS Y DISOLVENTES.....	40
<b>5. SECCIÓN EXPERIMENTAL.....</b>	<b>42</b>
5.1.1. <i>SÍNTESIS DE LOS RESORCINARENOS</i> .....	42
5.1.2. <i>SÍNTESIS DE LOS RESORCINAREN-DENDRÍMEROS DE GENERACIÓN 0.5</i> .....	45
5.1.3. <i>SÍNTESIS DE LOS RESORCINAREN-DENDRÍMEROS TIPO PAMAM DE GENERACIÓN 1.0</i> .....	48
5.1.4. <i>SÍNTESIS DE LOS RESORCINAREN-DENDRÍMEROS TIPO PAMAM DE GENERACIÓN 1.5</i> .....	51
5.1.5. <i>SÍNTESIS DE LOS RESORCINAREN-DENDRÍMEROS TIPO PAMAM DE GENERACIÓN 2.0</i> .....	54

5.2.1. SÍNTESIS DE LOS RESORCINAREN-DENDRÍMEROS G 1.0 CONJUGADOS CON CLORAMBUCILO .....	58
5.2.2. SÍNTESIS DE LOS RESORCINAREN-DENDRÍMEROS DE G 2.0 CONJUGADO CON CLORAMBUCILO .....	61
<b>6. DISCUSIÓN DE RESULTADOS .....</b>	<b>66</b>
6.1.1. RESORCINARENOS .....	66
6.1.2. RESORCINAREN-DENDRÍMEROS G 0.5 .....	71
6.1.3. RESORCINAREN-DENDRÍMEROS TIPO PAMAM G 1.0 .....	75
6.1.4. RESORCINAREN-DENDRÍMEROS TIPO PAMAM G 1.5 .....	81
6.1.5. RESORCINAREN-DENDRÍMEROS TIPO PAMAM G 2.0 .....	85
6.2.0. CONJUGADOS CON CLORAMBUCILO.....	88
<i>6.2.1. Caracterización del clorambucilo.....</i>	<i>88</i>
6.2.2. RESORCINAREN-DENDRÍMEROS TIPO PAMAM G 1.0 CONJUGADO CON CLORAMBUCILO. ....	90
6.2.3. RESORCINAREN-DENDRÍMEROS TIPO PAMAM G 2.0 CONJUGADO CON CLORAMBUCILO. ....	97
<b>7. PRUEBAS DE ACTIVIDAD CITOTÓXICA. ....</b>	<b>102</b>
<b>8. CONCLUSIONES .....</b>	<b>109</b>
<b>9. BIBLIOGRAFÍA .....</b>	<b>112</b>
<b>10. ANEXO .....</b>	<b>117</b>

## ***Lista de abreviaturas***

**°C:** Grado Celsius

**$\lambda$ :** Longitud de onda

**$\delta$ :** Desplazamiento químico

**ADN:** Ácido desoxirribonucleico

**Ar:** Aromático

**CDCl<sub>3</sub>:** Cloroformo deuterado

**CD<sub>3</sub>OD:** Metanol deuterado

**(CD<sub>3</sub>)<sub>2</sub>SO:** Dimetil sulfóxido deuterado

**CHCl<sub>3</sub>:** Cloroformo

**CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>:** Diclorometano

**CLB:** Clorambucilo

**cm<sup>-1</sup>:** Centímetros a la menos uno

**d:** Doblete

**DMSO:** Dimetil sulfóxido

**DMF:** N,N-dimetilformamida

**EDA:** Etilendiamina

**EM:** Espectrometría de masas

**ESI:** Espectroscopía de masas de ionización por electrospray

**FAB:** Franco-alemana-británica

**FTIR:** Espectroscopía infrarroja por transformada de Fourier

**G:** Generación

**HCl:** Ácido clorhídrico

**IR:** Espectroscopía de infrarrojo

**IUPAC:** Unión internacional de química pura y aplicada.

**J:** Constante de acoplamiento

**K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>:** Carbonato de potasio

**KBr:** Bromuro de potasio

**LLA:** Leucemia linfoblástica aguda

**LNLA:** Leucemia mieloblástica o no linfoblástica aguda

**m:** Multiplete

**MALDI:** Ionización por desorción láser asistida de matriz

**PAMAM:** Poliamidoamino

**PAMAMOS:** Poli (amidoamina-organosilicio)

**pH:** Potencial de iones hidrógeno

**PPI:** Poli (propileno imina)

**MeOH:** Metanol

**MHz:** Megahertz

**mL:** Mililitro

**$\mu$ M:** Micromolar

**NaOH:** Hidróxido de sodio

**nm:** Nanómetro

**ppm:** Partes por millón

**RMN <sup>1</sup>H:** Resonancia Magnética Nuclear de protón

**RMN <sup>13</sup>C:** Resonancia Magnética Nuclear de carbono

**s:** Singulete

**sa:** Señal ancha

**SRB:** Sulfurodamina B

**t:** Triplete

**TOF:** Tiempo de luz

**UV-vis:** Ultravioleta-visible

# Capítulo 1



## Introducción



# 1. Introducción

El cáncer es la segunda causa de muerte a nivel mundial, precedida por las enfermedades cardiovasculares. Se caracteriza por la formación de un tumor maligno de algún tejido, que presenta una división descontrolada de algunas de las células del cuerpo, las cuales se extienden a tejidos cercanos. Anualmente en México se registran 7 mil nuevos casos de leucemias, por lo tanto, se busca dar una solución al presente problema.

Actualmente la quimioterapia es el método más utilizado para el tratamiento del cáncer, se basa en la inhibición de la división celular de las células tumorales. Lamentablemente esta estrategia también afecta a las células sanas, creando efectos secundarios, tales como: caída del cabello, llagas en la boca, pérdida de apetito, diarrea, aumento del riesgo de infecciones, fácil formación de hematomas o hemorragias, cansancio, náuseas y vómitos.

Dado que la mayoría de fármacos antitumorales presentan inconvenientes, como los mencionados anteriormente, se buscan nuevas alternativas. Una de las alternativas más prometedoras para solucionar los problemas de solubilidad de estos fármacos, así como su selectividad y facilitar el acarreamiento de los anti cancerígenos, es la conjugación con sistemas portadores, empleando macromoléculas tales como los dendrímeros.

El objetivo del presente trabajo es la síntesis de dendrímeros tipo poli(amidoamina) (PAMAM) con una molécula de resorcinareno como núcleo, conjugado con clorambucilo. Buscando mejorar las propiedades del fármaco usado contra la leucemia linfática; aumentando su especificidad, potencia, eficiencia y disminuyendo su toxicidad. De esta manera se espera mejorar significativamente las opciones de tratamiento para el cáncer.

# Capítulo 2



Antecedentes

## **2. Antecedentes**

### **2.0.0. El cáncer**

El cáncer es una enfermedad genética, se puede heredar de los padres. Puede ser causada por modificaciones genéticas, como consecuencia de la exposición a sustancias, tales como el humo de tabaco, la radiación de los rayos ultravioleta del sol. En todos los tipos de cáncer, algunas de las células del cuerpo empiezan a dividirse sin detenerse y se dispersa a los tejidos aledaños<sup>1</sup>.

El cáncer puede empezar en cualquier parte del cuerpo humano. Normalmente, las células humanas crecen y se dividen para formar nuevas células a medida que el cuerpo las necesita. Cuando las células normales envejecen o se dañan, mueren, y las células nuevas las reemplazan; sin embargo, cuando células nuevas se forman, cuando el cuerpo no las necesita y las células viejas no mueren cuando deberían morir, se forma una masa de tejido, llamando tumor.

Las células de los tumores malignos se dividen sin control y sin orden; invadiendo y destruyendo el tejido a su alrededor, las células cancerosas pueden desprenderse de un tumor maligno y entrar al torrente sanguíneo o al sistema linfático<sup>2</sup>.

El cáncer es una de las principales causas de mortalidad en el mundo, afectando a más de 10 millones de nuevos pacientes cada año. Actualmente, existen varias maneras para tratar los cánceres, entre las que encontramos a, la cirugía, la radiación y la quimioterapia<sup>3</sup>.

### **2.0.1. Quimioterapia**

La quimioterapia tradicional es uno de los pilares para el tratamiento de la formación anormal en algún tejido nuevo de carácter tumoral, benigno o maligno. Es una opción común de tratamiento adoptada por pacientes con cáncer en todo el mundo. Consta en utilizar fármacos anticancerígenos o fármacos quimioterapéuticos, que poseen propiedades anticancerígenas, además tienen la capacidad de destruir la célula que se divide rápidamente<sup>4</sup>.

Los medicamentos se administran por vía oral, o se inyectan en una vena, y viajan por el torrente sanguíneo para alcanzar las células cancerosas en todo el cuerpo. Se administra la quimioterapia en ciclos, con cada período de tratamiento seguido de un período de descanso para permitir que el cuerpo se recupere. La eficiencia de la quimioterapia depende tanto del tipo, así como de la etapa del cáncer<sup>5</sup>.

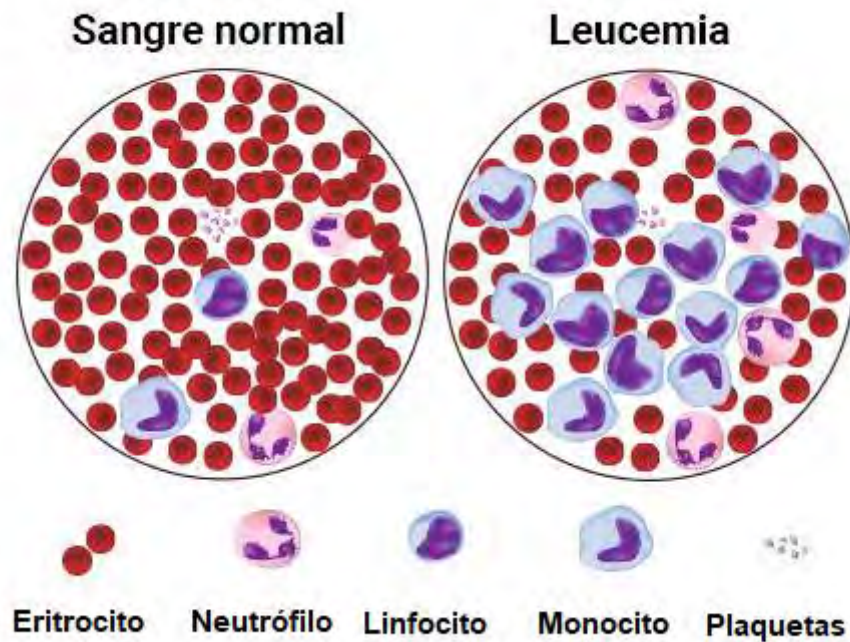
Sin embargo, la quimioterapia provoca efectos adversos, tales como: infertilidad, malestar gastrointestinal, anemia, fatiga, hematomas, hemorragias, neuropatía, diarrea, náuseas y vómitos. A medida que los fármacos quimioterapéuticos afectan a las células dañadas de rápido crecimiento, también se ven afectadas las células sanas<sup>4</sup>.

Existen una gran variedad y diversidad de tipos de cáncer entre las que encontramos: de mama, de pulmón, de vejiga, de piel, de próstata, de colon, de boca y esófago, de hígado, de estómago, de páncreas, tumores ginecológicos, Enfermedad de Hodgkin, Linfomas no Hodgkin, Leucemia aguda y crónica<sup>1</sup>.

En el presente trabajo de investigación nosotros nos enfocaremos en la leucemia, por lo que profundizaremos un poco en este tipo de cáncer.

### **2.0.2. Leucemia**

La leucemia es un tipo de cáncer que se da en la sangre y la médula ósea (tejido esponjoso que se encuentra en el centro de los huesos), resultado de una producción anormal de glóbulos blancos en las células. Generalmente no se forman tumores sólidos. La concentración baja de células normales de la sangre puede hacer que el cuerpo lleve con dificultad oxígeno a los tejidos, que no controle las hemorragias, sangrado fácil o que no combata las infecciones, además se presentan síntomas tales como; fiebre, agotamiento, dolor de huesos<sup>6</sup>.



**Figura 1.** Del lado izquierdo se aprecian las células sanas de la médula ósea, mientras que en el lado derecho se observan células leucémicas de la médula ósea.

### 2.0.3. Tipos de leucemia

Existen cuatro tipos comunes de leucemia: los cuales se agrupan de acuerdo a la rapidez con la que empeora la enfermedad, la aguda (rápida) y la crónica (se da lentamente); y del tipo de glóbulo en donde empieza el cáncer (linfoblástico o mieloide). A continuación, se explicarán cada una de ellas<sup>6</sup>.

Si el proceso de crecimiento descontrolado se lleva a cabo de forma muy rápida, formándose células inmaduras, se le denominará *leucemia aguda*. Por otra parte, si el proceso es más lento, permitiendo la maduración de las células cancerosas, se le denominará *leucemia crónica*.

*Leucemia aguda*<sup>7,8</sup>. Este tipo de leucemia comienza después de que una o varias células blancas pierden o dañan su secuencia de ADN, permaneciendo inmaduras,

sin embargo, siguen teniendo la capacidad de multiplicarse, llegando a invadir la mayor parte o la totalidad de la médula ósea. Se requiere de un tratamiento rápido y agresivo.

Por otra parte, la *leucemia crónica*<sup>7,9</sup>, involucra a células más maduras, las cuales se replican y acumulan lentamente. Inicialmente no se presentan síntomas, pueden pasar años inadvertidas o sin ser diagnosticado.

Existen otro tipo de clasificaciones, según el tipo de células afectadas, tal como se mencionan a continuación:

La *leucemia linfocítica*<sup>7</sup> afecta los linfocitos que forman el tejido linfático, las células se hacen cancerosas y rápidamente reemplazan a las células normales que se encuentran en la médula ósea.

La *leucemia mielógena*<sup>7,9</sup>, se caracteriza por afectar a las células mieloides. La línea de células mieloides incluye las células que más adelante se convierten en eritrocitos y leucocitos, estos se convierten en células cancerosas que invaden la médula ósea. La leucemia mieloide crónica se caracteriza por la presencia del cromosoma filadelfia<sup>9,10</sup>.

La clasificación FAB (franco-alemana-británica) diferencia el tipo de leucemias, dependiendo de la morfología celular. Así hay tres grupos de leucemias linfoides, del L1 al L3, y siete grupos de leucemias mieloides, del M1 al M7<sup>8</sup> (Tabla 1).

**Tabla 1.** Clases de leucemias según la clasificación de FAB.

<b>Subtipo clasificación por FAB</b>	<b>Características</b>
<b>Leucemia linfoblástica aguda (LLA)</b>	
<b>L<sub>1</sub></b>	Blastos pequeños con escaso citoplasma. El núcleo es redondo y frecuentemente con un único nucléolo pequeño.
<b>L<sub>2</sub></b>	Células blásticas más grandes y con mayor cantidad de citoplasma a comparación que la L1. El núcleo presenta una forma irregular y con múltiples nucléolos.
<b>L<sub>3</sub></b>	Células grandes, con un núcleo redondo de cromatina fina.
<b>Leucemia mieloblástica o no linfoblástica aguda (LNLA)</b>	
<b>M<sub>1</sub></b>	Leucemia mieloblástica aguda con maduración mínima. Células indiferenciadas con alguna granulación citoplasmática esporádica.
<b>M<sub>2</sub></b>	Leucemia mieloblástica aguda con maduración. Predominio de células con granulación citoplasmática.

<b>M<sub>3</sub></b>	Leucemia promielocítica aguda (APL) o hipergranular. Predominio de promielocitos hipergranulares.
<b>M<sub>4</sub></b>	Leucemia mielomonocítica aguda. Semejante a M1 y M2 pero con más del 20% de promonocitos y monocitos.
<b>M<sub>5</sub></b>	Leucemia monocítica aguda. Monoblastos grandes.
<b>M<sub>6</sub></b>	Leucemia eritroide aguda. Predominio de precursores eritroblásticos con rasgos megaloblásticos y frecuente multinuclearidad, junto a mieloblastos.
<b>M<sub>7</sub></b>	Leucemia megacarioblástica aguda. Morfología variable con rasgos que pueden pasar inadvertidos con microscopía óptica convencional.

#### 2.0.4. Factores de riesgo

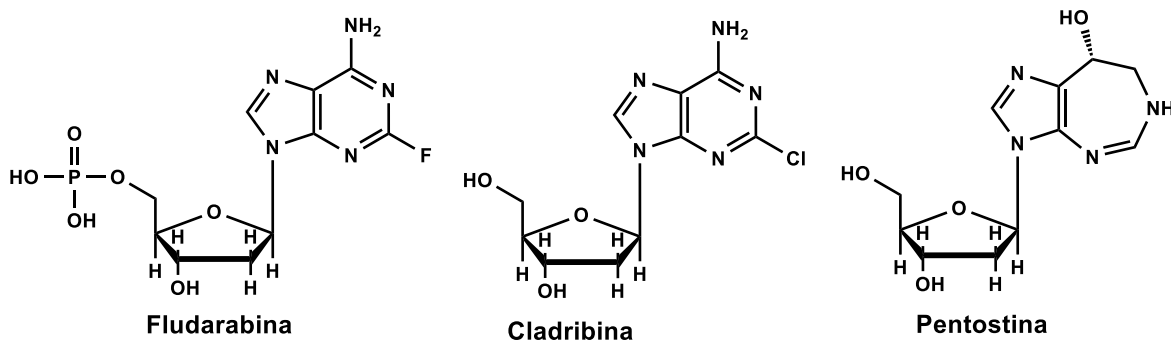
Los factores de riesgo genéticos son aquellos que forman parte del ADN, aumentan el riesgo de desarrollar leucemias, sin embargo, la mayoría de las leucemias no están relacionadas con ninguna causa genética. Algunos de los trastornos que aumentan el riesgo que una persona desarrolle leucemia, son: Síndrome de Down, Síndrome de Li-Fraunemi, trastornos como neurofibromatosis y anemia de Fanconi<sup>11</sup>.



Los factores de riesgo relacionados con el estilo de vida, incluyen fumar, sobrepeso, beber excesivamente el alcohol, exposición al sol. Por otra parte, se encuentran los riesgos ambientales como la radiación y ciertas sustancias que aumentan el riesgo de padecer leucemia<sup>11</sup>.

### 2.0.5. Fármacos utilizados para el tratamiento contra la leucemia linfática crónica

Entre los principales medicamentos utilizados para el tratamiento de la leucemia linfática crónica son: Los análogos de la purina, incluyen a la fludarabina (Fludara®), pentostatina (Nipent®), cladribina (2-CdA, Leustatina®) (ver figura 2). Por otra parte, están los agentes alquilantes, que incluyen al *clorambucilo* (Leukeran®) y ciclofosfamida (Cytosan®). Un medicamento utilizado recientemente es el llamado bendamustina (Treanda®), el cual es un agente alquilante que tiene algunas propiedades de un análogo de purina<sup>12</sup>.

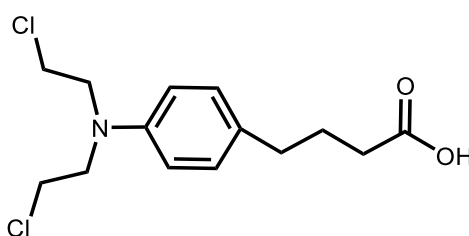


**Figura 2.** Fármacos análogos de la purina contra el tratamiento de la leucemia linfática crónica.

En el presente trabajo de investigación se empleará al clorambucilo, por esta razón se profundizará en este fármaco empleado en la quimioterapia contra leucemia.

### 2.1.0. Clorambucilo

Uno de los fármacos utilizados actualmente para el tratamiento clínico contra la leucemia linfática crónica, los trastornos de origen inmunológico (como la artritis reumatoide y la enfermedad del lupus), así como para los carcinomas ováricos y de mama avanzados<sup>13,14</sup>, cáncer de pulmón, linfomas de Hodgkin y de no-Hodgkin, es el clorambucilo (CLB) (ácido 4- (4-bis (2-cloroetil amino) fenil) butanoico)<sup>15</sup> (ver figura 3), es conocido comercialmente como Leukeran y está disponible en forma de tabletas para administración oral<sup>16</sup>.



**Figura 3.** Estructura del (ácido 4- (4-bis (2-cloroetil) aminofenil) butanoico)  
C<sub>14</sub>H<sub>19</sub>NCl<sub>2</sub>O<sub>2</sub>.

Algunas de las características generales del clorambucilo se indican en la tabla 2.

**Tabla 2.** Características del clorambucilo.

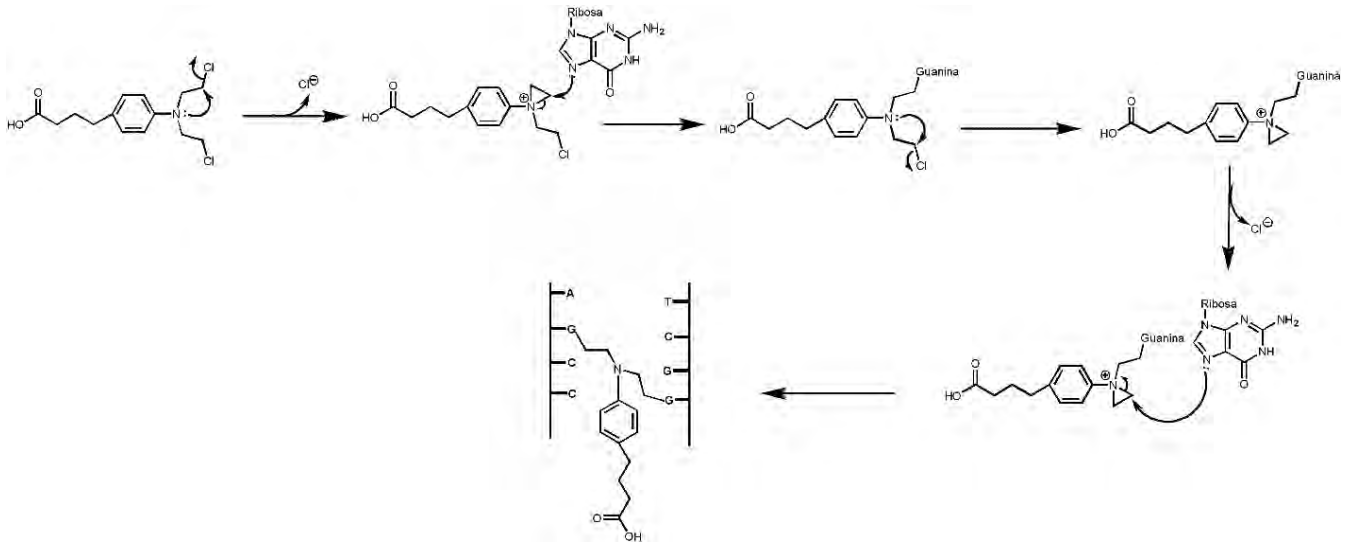
<b>Nombre</b>	(ácido 4- (4-bis (2-cloroetil) aminofenil) butanoico)
<b>Fórmula empírica</b>	C <sub>14</sub> H <sub>19</sub> Cl <sub>2</sub> NO <sub>2</sub>
<b>Composición elemental</b>	C: 55.25%; H:6.30%; Cl:23.31%; N:4.60%; O:10.52%
<b>Masa molecular</b>	304.20 g/mol
<b>Aspecto</b>	Sólido blanco
<b>Punto de fusión</b>	64-68°C
<b>pKa</b>	5.8

El CLB pertenece a un grupo de derivados de la mostaza anilina sintetizada por Everett<sup>17</sup>. La introducción de una función carboxílica fue diseñada para hacer a la molécula más hidrófila<sup>18</sup>, además es un agente adecuado para la modificación química debido a la presencia de un solo grupo carboxilo en la molécula<sup>19</sup>.

El clorambucilo (Leukeran) es una mostaza nitrogenada. Induce la alquilación de ADN, es decir, forma enlaces covalentes con grupos nucleofílicos del ADN, evitando su replicación. La alquilación daña el ADN y lo deja más propenso a la rotura. Cuando se absorbe por las células cancerosas, el ADN dañado no puede repararse rápidamente, lo que lleva a la muerte celular.

El mecanismo de acción del clorambucilo<sup>20,21</sup> (ver esquema 1), se basa en el par de electrones no compartido del nitrógeno, que pueden formar sales de aziridinio, las cuales son fuertemente electrofílicas y reaccionan con los grupos nucleófilos del ADN formando enlaces covalentes.

En la mostaza nitrogenada del clorambucilo, el átomo de nitrógeno desplaza al cloro para dar lugar a un catión intermedio, llamado aziridinio. Este ión reacciona fácilmente con nucleófilos, la posición N-7 de la guanina en el ADN es fuertemente nucleófila y puede ser fácilmente alquilada por el catión aziridinio. La segunda transformación química de la mostaza nitrogenada proporciona un ión aziridinio, el cual, tras la reacción con otro nucleófilo de ADN, forma enlaces covalentes cruzados con las guaninas de cada una de las hebras del ADN, evitando la replicación de estas.



**Esquema 1.** Mecanismo de acción del Clorambucilo.

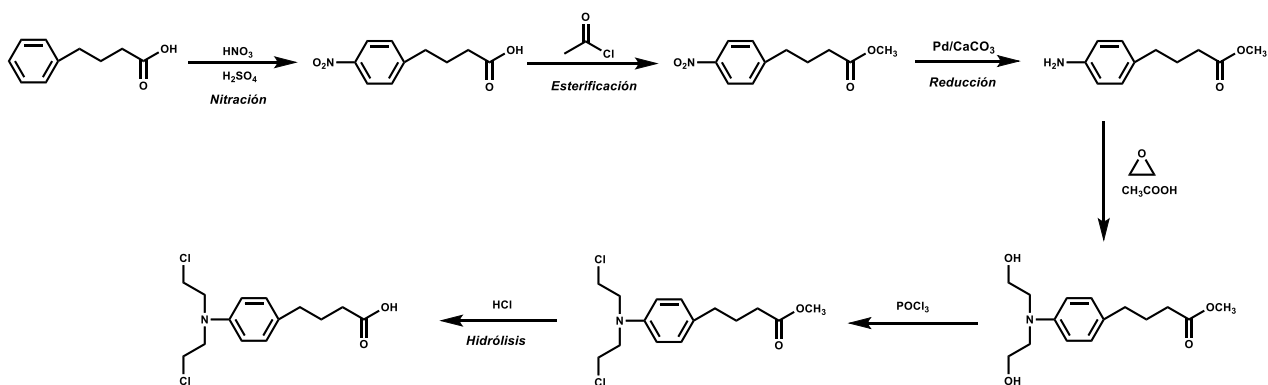
La aplicación clínica de este fármaco anticanceroso origina su toxicidad por su no especificidad para el tejido tumoral cuando se administra sistémicamente y por citotoxicidad, está limitada por sus efectos secundarios tóxicos<sup>19</sup>.

### 2.1.1. Síntesis de clorambucilo

Desde el momento de su descubrimiento se han reportado distintas rutas sintéticas para obtener el clorambucilo, utilizando como materia prima el ácido-4-fenilbutanoico, o bien a partir de la acetanilida y el anhídrido succínico.

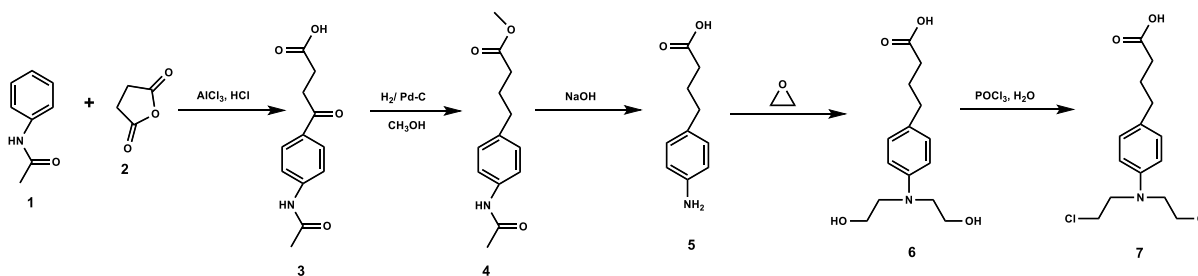
Algunas de las rutas sintéticas desarrolladas hasta el momento se muestran a continuación:

El ácido 4-(4-bis (2-cloroetil amino) fenil) butanoico, fue sintetizado en 1953, por Everett y colaboradores<sup>17</sup>, partiendo del ácido-4-fenilbutanoico, la ruta sintética se muestra a continuación en el esquema 2.



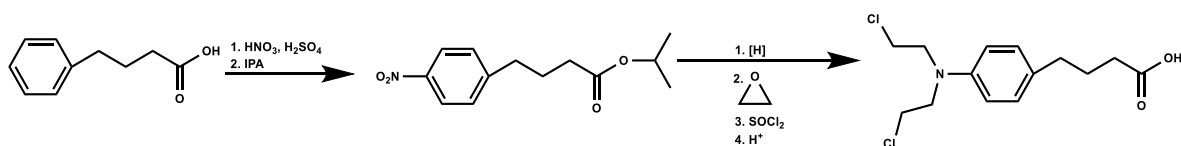
**Esquema 2.** Primera síntesis del clorambucilo, a partir del ácido 4-fenilbutanoico, reportado por Everett J.L. y colaboradores<sup>17</sup>.

Tiempo más tarde se reportó otra ruta sintética (ver esquema 3)<sup>22</sup> para obtener el ácido 4-[4-[bis(2-cloroetil)amino]fenil]butanoico (CLB), el cual se sintetizó a partir de acetanilida **1** y anhídrido succínico **2**, obteniéndose el ácido 4-[(4-acetaminofenil)-4-ceto]butírico **3**. El grupo ceto se reduce mediante el uso de hidrógeno en una solución de metanol usando paladio sustentado en carbono como catalizador, generando el éster metílico del ácido 4-[4(acetaminofenil)butírico] **4**. El compuesto **4** se trata con un álcali para hidrolizar y así generar al ácido 4-(4-aminofenil)butanoico **5**, el cual reacciona con óxido de etileno generando al ácido 4-[4-[bis(2-hidroxi-etil)amino]fenil]butanoico **6**. La sustitución de todos los grupos hidroxilo por átomos de cloro se realiza usando cloruro de fosforilo, posteriormente se realiza un tratamiento con agua para hidrolizar el ácido 4-[4-[bis(2-hidroxi-etil)amino]fenil]butanoico **6**, obteniéndose así el clorambucilo **7**.



**Esquema 3.** Síntesis del clorambucilo **7**, a partir de la acetanilida **1** y el anhídrido succínico **2**.

Otra ruta de síntesis es partiendo del ácido fenilbutanoico<sup>23</sup> (ver esquema 4), se somete a una nitración, seguida de una reacción con isopropanol (IPA), obteniéndose el derivado del éster isopropílico. Posteriormente se reduce el grupo nitro. En seguida se hace reaccionar con óxido de etileno, el cual forma el derivado del bis-(2-hidroxi)etil)amino. Los grupos hidroxilo son sustituidos por átomos de cloro, haciendo reaccionar el grupo bis-(2-hidroxi)etil)amino con cloruro de tionilo. Finalmente, se realiza un tratamiento ácido para la obtención del clorambucilo.

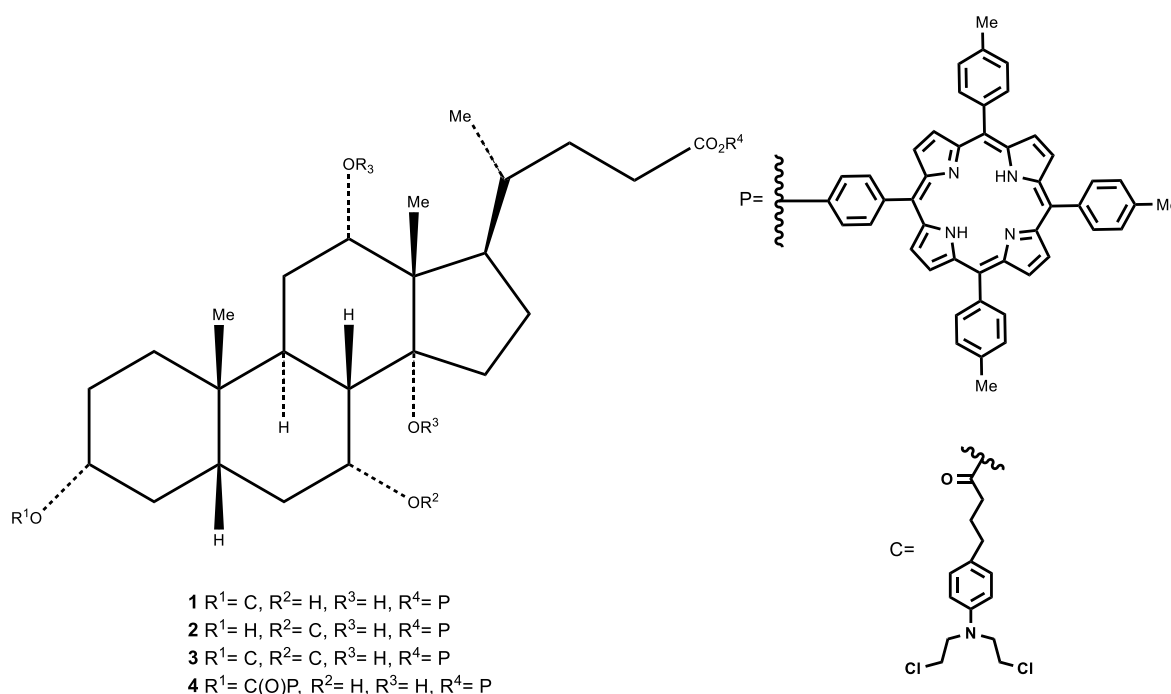


**Esquema 4.** Síntesis del clorambucilo, a partir del ácido fenilbutanoico.

### 2.1.2. Síntesis de conjugados de clorambucilo

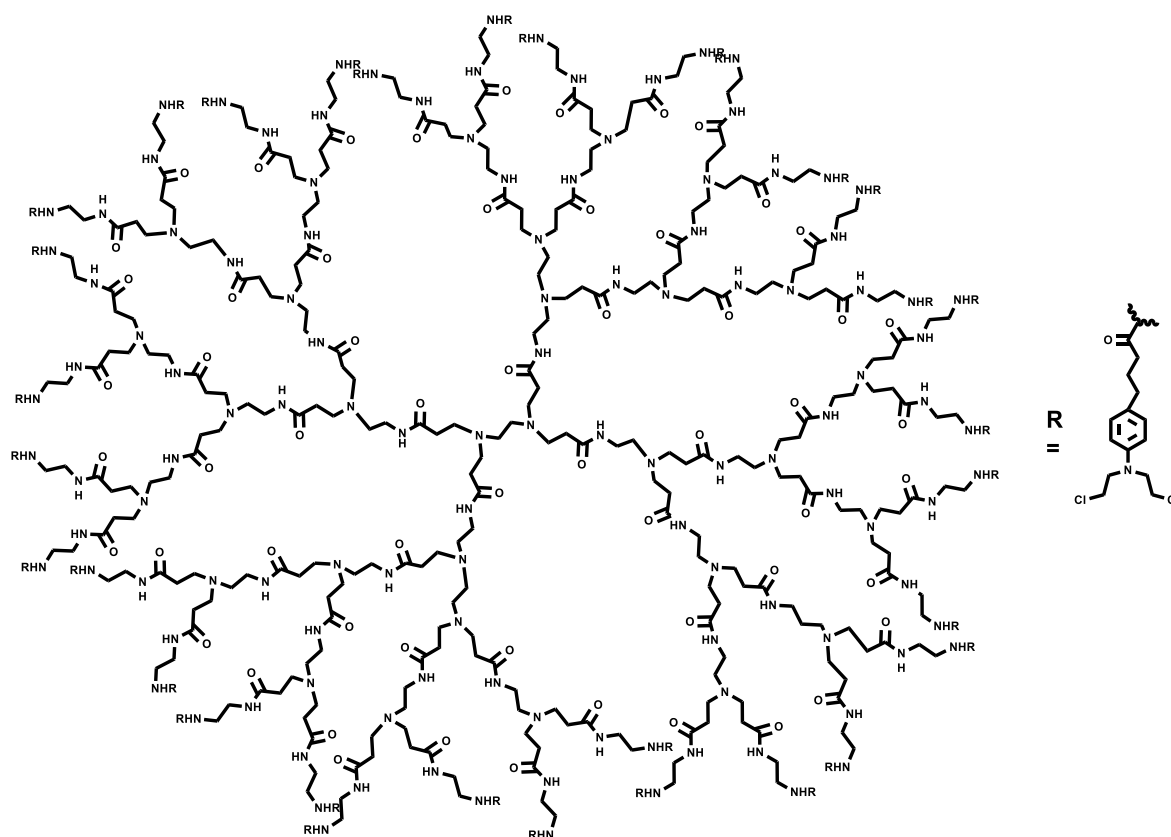
El clorambucilo ha sido empleado en conjugados, algunos ejemplos de conjugados de clorambucilo, se muestran a continuación.

Se han realizado varios estudios y síntesis de conjugados con clorambucilo, tales como los conjugados de porfirinas con clorambucilo, compuesto de ácido cólico, porfirinas y clorambucilo, los cuales han sido diseñado por Mehta y colaboradores<sup>24</sup> para su uso en terapia fotodinámica. Los compuestos obtenidos se muestran en el esquema 5.



**Esquema 5.** Conjugados de ácido cólico con porfirinas y clorambucilo<sup>24</sup>.

En 2011, Bielowski y colaboradores<sup>25</sup> sintetizaron el conjugado de dendrímero tipo PAMAM-NH<sub>2</sub> G 3.0 con clorambucilo (ver esquema 6), demostrándose que el conjugado es un potente agente antiproliferativo, los resultados mostraron que el conjugado de PAMAM-clorambucilo era estable. Además, posee un efecto apoptótico más fuerte que el causado por el clorambucilo libre, puesto que posee un mayor número de moléculas del fármaco en comparación con el fármaco libre.



**Esquema 6.** Conjugado de dendrímérico tipo PAMAM-NH<sub>2</sub> G3.0 con clorambucilo<sup>25</sup>.

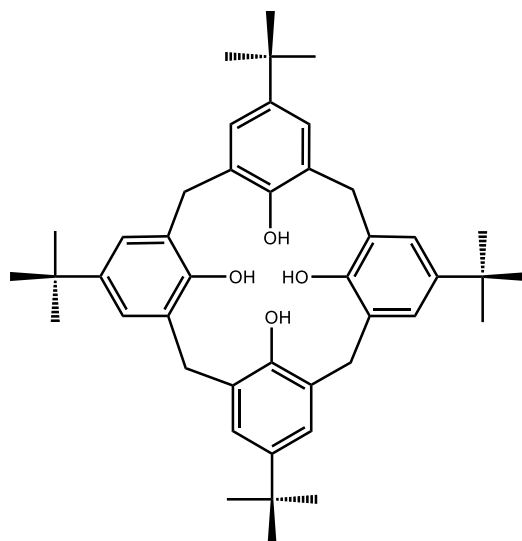
En el presente trabajo de investigación realizaremos la síntesis de conjugados con clorambucilo. Se realizará con macromoléculas cíclicas. Estos macrociclos deberán presentar grupos funcionalizables y no presentar impedimento estérico para poder contener un gran número de moléculas de clorambucilo, es por lo que se explicará un poco acerca de los calixarenos.



### 2.2.0. Calixarenos

En 1978 C. David Gutsche<sup>26</sup> fue el que dio el nombre a estos compuestos y los nombró *calixarenos*. "Calixareno" proviene del griego "calix" el cual es referente a una cerámica florero-cono (cáliz) y "areno" debido a la presencia de grupo arilo.

Los calixarenos se obtienen por la condensación de fenoles con formaldehído en condiciones que favorezcan la ciclación en lugar de la polimerización, siendo el más conocido el tetrámero con sustituyentes p-tert-butilo denominado p-tert-butilcalix[4]areno (ver figura 4), el cual se sintetizó a partir del p-tert-butilfenol y formaldehído en presencia de pequeñas cantidades de hidróxido de sodio a 110-120°C<sup>27</sup>.



**Figura 4.** Estructura del p-tert-butilcalix[4]areno

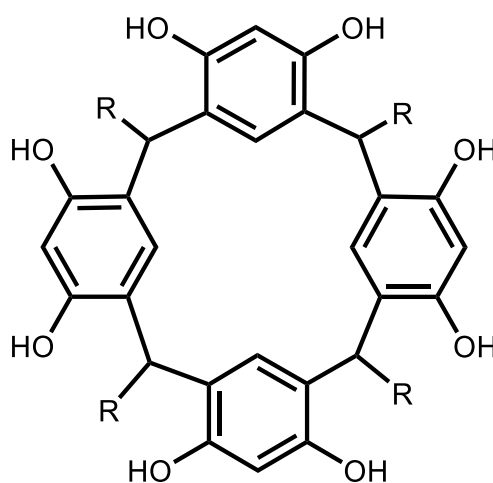
Con el tiempo, el término calixareno se utilizó para describir todos los oligómeros cíclicos obtenidos a partir de fenoles o resorcinoles, independientemente de su conformación o tamaño. La nomenclatura de Gutsche y Böhmer es sencilla y consiste en contar el número de unidades de anillos aromáticos que conforman al macrociclo e incluirlo en el nombre calix[n]areno. Por ejemplo, un calix[4]areno cuenta con 4 unidades de anillos aromáticos en el macrociclo, la "n" puede variar entre 4-8<sup>28</sup>.

Los *resorcinarenos*<sup>27</sup> son un tipo de calixarenos, los cuales se sintetizan a partir del resorcinol (3-hidroxifenol) y aldehído bajo condiciones ácidas. Como en el presente trabajo de investigación emplearemos los resorcinarenos como núcleo dendrítico se profundizará un poco en este tipo de macrociclos.

### 2.3.0. Resorcinarenos

En 1872 Adolf von Baeyer<sup>29</sup> sintetizó las tintas fenólicas, a partir de la adición de ácido sulfúrico concentrado a una mezcla de benzaldehído y resorcinol, dando como resultado un producto de color rojo, el cual se convirtió en un producto de color violeta en presencia de una solución alcalina<sup>30</sup>.

En 1940 Niederl y Vogel<sup>31</sup>, estudiaron los productos de condensación ácida entre aldehídos alifáticos y el resorcinol. Erdtman<sup>32</sup> mediante estudios de difracción de rayos X, propuso una estructura tetramérica (4:4) (ver figura 5) para los productos finales de la reacción<sup>33</sup>, de rendimientos del orden de 80 a 90%.



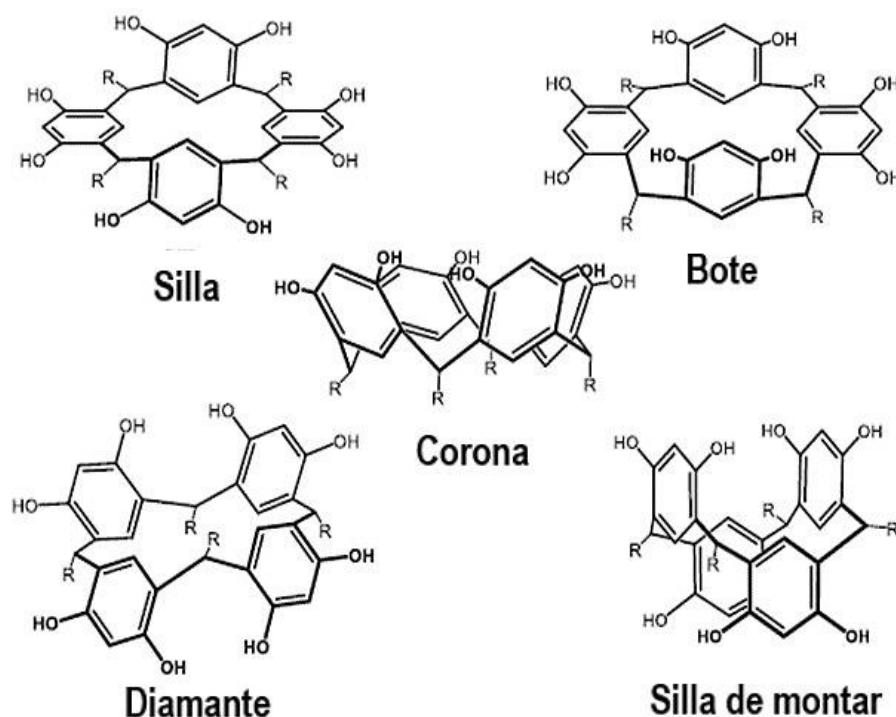
**Figura 5.** Estructura general de resocinarenos.

### 2.3.1. Propiedades de los resorcinarenos

Los resorcinarenos presentan puntos de fusión mayores a 300°C, el valor puede modificarse por las diferentes ramificaciones que presenten los compuestos<sup>30</sup>. Presentan buena solubilidad en disolventes orgánicos y una baja o nula solubilidad en agua. La presencia de los grupos hidroxilo en los anillos aromáticos de los resorcinarenos los hace altamente susceptibles para reacciones de sustitución aromática electrofílica. Al funcionalizar los grupos OH mejora considerablemente su solubilidad en los disolventes orgánicos<sup>33</sup>.

### 2.3.2. Conformaciones de los resorcinarenos

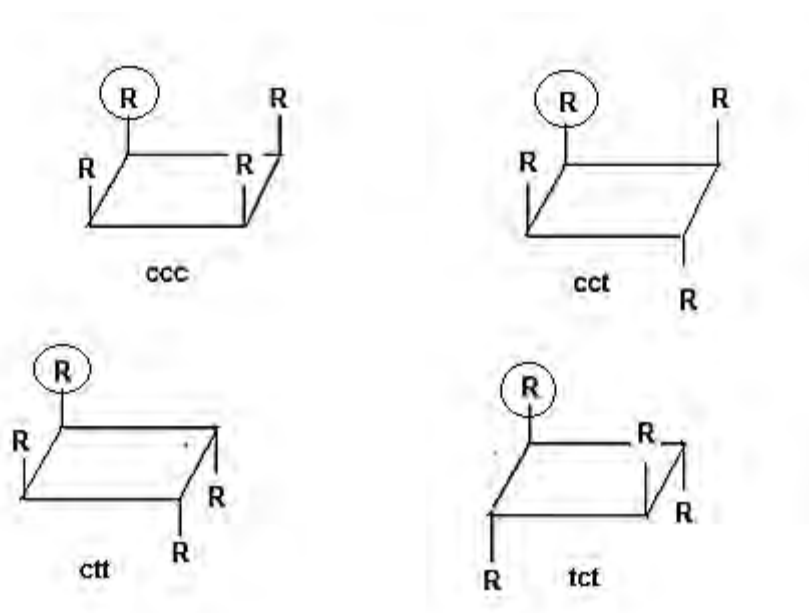
La molécula de resorcinareno no es plana, significa que en principio pueden existir diferentes formas isómeras, tales como: corona ( $C_{4v}$ ), silla ( $C_{2h}$ ), bote ( $C_{2v}$ ), diamante ( $C_s$ ) y silla de montar ( $D_{2d}$ ) (ver figura 6)<sup>30,31</sup>. (Ver anexo).



**Figura 6.** Conformaciones de resorcinarenos<sup>30</sup>.

El carbono alifático puente entre los anillos aromáticos permite que la molécula pueda adoptar distintas conformaciones, además puede haber una interconversión entre dos conformaciones como es el caso de la conversión de la conformación barco a la corona, silla a corona o bien de la conformación diamante a la corona. Este comportamiento es confirmado al realizar RMN- $^1\text{H}$  a temperatura ambiente y otro a  $-60^\circ\text{C}$ .

Además, los resorcinarenos pueden tener 4 diastereoisómeros. La configuración relativa de los sustituyentes en los puentes de metileno, que dan la cis-cis-cis (ccc), cis-cis-trans (cct), cis-trans-trans (ctt) y trans-cis-trans (tct) (figura 7).

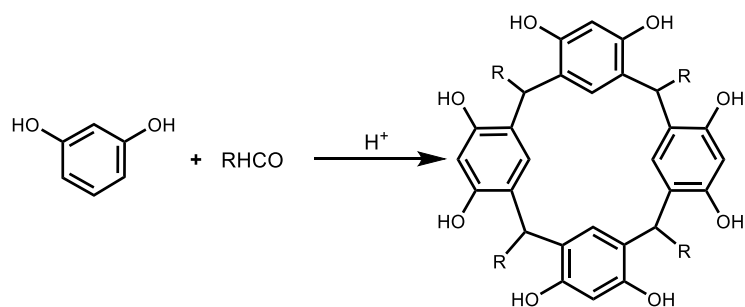


**Figura 7.** Conformaciones relativas de los sustituyentes en los puentes de metileno<sup>30</sup>.

### 2.3.3. Síntesis de resorcinarenos

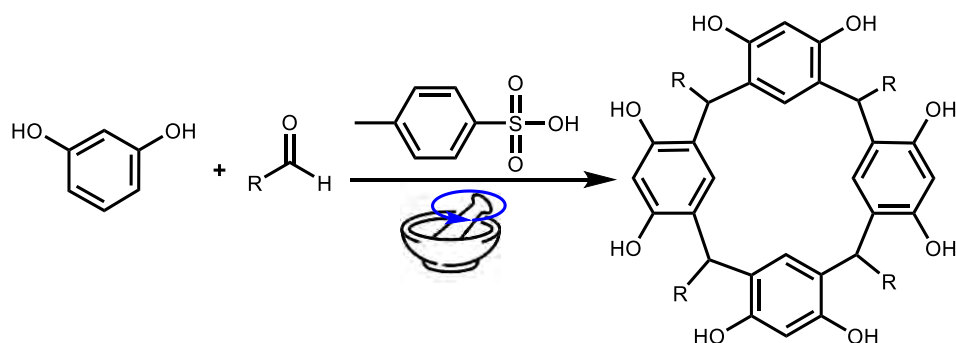
Los resorcinarenos se pueden preparar en rendimientos de medios a altos mediante procedimientos sencillos de un solo paso. La mayoría de los casos se obtienen mediante una reacción de condensación catalizada por ácido entre el resorcinol y un aldehído (ver esquema 7). La reacción se lleva en condiciones a reflujo en una

mezcla de etanol y HCl concentrado durante varias horas, aunque las condiciones óptimas dependen del aldehído<sup>30</sup>.



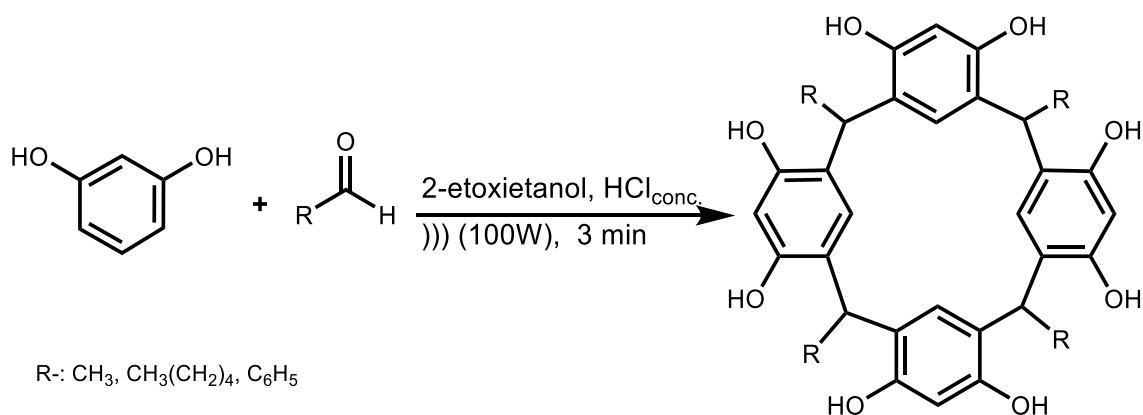
**Esquema 7.** Síntesis general de los resorcinarenos.

Con el paso del tiempo se han buscado rutas sintéticas verdes, por lo que en 2005 Antesberger y colaboradores<sup>34</sup> encontraron una ruta libre de disolventes (esquema 8), la cual consta en colocar en un mortero el resorcinol y el aldehído de interés con ácido p-toluenosulfónico, el cual funge como catalizador. Finalmente, se muele en un mortero obteniendo el resorcinareno correspondiente.



**Esquema 8.** Síntesis de los resorcinarenos, utilizando una ruta sintética libre de disolventes.

Otro método es el uso de irradiación con microondas, el cual es un método extremadamente simple para la preparación de resorcinarenos, es por una condensación catalizada por ácido de un aldehído y resorcinol usando tecnología de microondas, tal como se muestra en el esquema 9. Se aplica irradiación microondas de 3 a 5 minutos, obteniéndose el resorcinareno correspondiente en un rendimiento de 80-99%<sup>35</sup>.



**Esquema 9.** Síntesis de resorcinarenos por ciclocondensación de resorcinol y aldehídos, usando irradiación de microondas.

### 2.3.4.0. Síntesis de derivados de los resorcinarenos

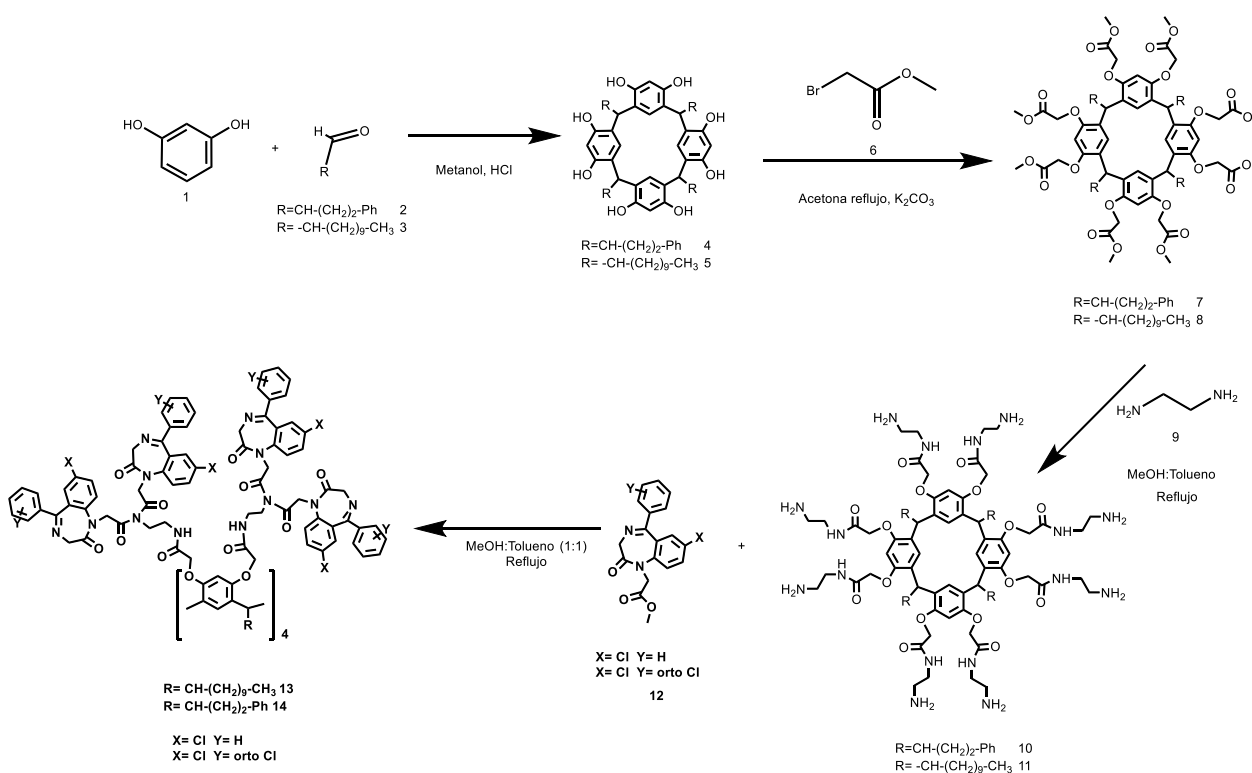
El interés especial hacia los resorcinarenos, se basa en sus ocho moléculas núcleo funcionalizables debido a su facilidad de síntesis y su conformación de ccc, es decir, una conformación de corona, lo que los hace menos afectados por las restricciones estéricas.

#### 2.3.4.1. Síntesis de resorcinaren-dendrimeros

En 2011, Cortez-Maya y colaboradores<sup>36</sup> reportaron la síntesis de los resorcinaren-dendrimeros tipo PAMAM conjugados con el 5-aril-1,4-benzodiazepina. Se ha establecido que la introducción de grupos éster activados en el borde superior de los resorcinarenos proporciona una excelente posibilidad de modificación química, adicional a la de los resorcinarenos. El grupo éster de resorcinarenos puede aminolizarse para obtener derivados de amida con grupos amino terminales. Los dendrimeros reaccionan con las moléculas de benzodiazepina, de tal suerte que quedan en la periferia de los resorcinaren-dendrimeros tipo PAMAM.

La síntesis de los resorcinarenos se basa en hacer reaccionar al resorcinol **1** con diferentes aldehídos (**2** o **3**), entonces poseen ocho grupos hidroxilos fenólicos los

cuales son alquilados con bromoacetato de metilo **6** en acetona y usando como catalizador carbonato de potasio, posteriormente se hace reaccionar con 1,2-diaminoetano **9** para así obtener el dendrímico de primera generación. Finalmente, los derivados de benzodiazepinas fueron adicionados a una mezcla de reacción con los resocinaren-dendrímicos tipo PAMAM de primera generación disueltos en una mezcla de metanol/benceno 1:1 y se mantuvo a reflujo la mezcla de reacción durante 3 días, los compuestos se lavaron con acetona y metanol para remover el exceso de las benzodiazepinas, tal como se muestra en el esquema 10.



**Esquema 10.** Síntesis de los resocinaren-dendrímicos tipo PAMAM conjugados con el 5-aryl-1,4-benzodiazepina.

Los resocinaren-dendrímicos son buenos candidatos para ser empleados como acarreadores de fármacos. Por lo tanto, se profundizará acerca de los dendrímicos.

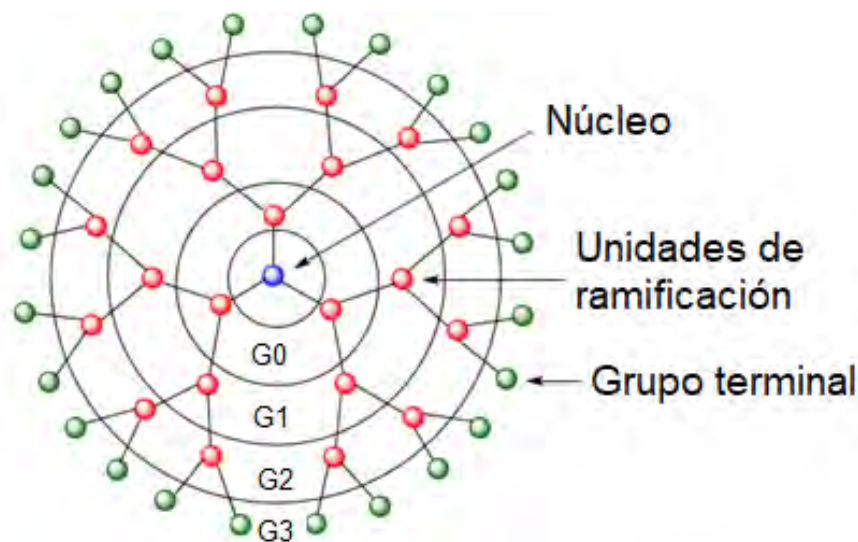
### 2.4.0. Dendrimeros

Los dendrimeros, son macromoléculas hiperramificadas y globulares con un núcleo bien definido, una espina dorsal y una periferia multivalente<sup>37,38</sup>. Son una clase de macromoléculas artificiales de tamaño nano en 3 dimensiones, con una estructura definida, son candidatos para ser vehículos de nanomedicina, especialmente en el campo del diagnóstico y terapia del cáncer<sup>39</sup>.

La palabra dendrimer surge del griego *dendron*, que significa “árbol” o “rama”, y *meros* que significa “parte”, también conocidos como “arbores”, por su similitud estructural con los árboles o “polímeros en cascada”<sup>40</sup>.

#### 2.4.1. La estructura de los dendrimeros

Un dendrimer se compone estructuralmente de tres partes del interior a la superficie<sup>39</sup> (ver figura 8): (1) un núcleo central con dos o más grupos reactivos, (2) unidades repetidas unidas covalentemente al núcleo central y organizadas en una serie de capas radialmente homocéntricas denominadas “generaciones” (G), y (3) grupos funcionales periféricos en la superficie que determinan predominantemente las propiedades fisicoquímicas de un dendrimer.



**Figura 8.** Estructura de un dendrimer<sup>38</sup>.



La metodología sintética para construir dendrímeros fue introducida por Vögtle y colaboradores en 1978<sup>41</sup>. Sin embargo, la primera serie de dendrímeros preparados usando un método bien establecido apareció en 1985 con la introducción de dendrímeros tipo PAMAM por Tomalia<sup>42</sup>.

En contraste con los polímeros convencionales, los dendrímeros se preparan mediante un procedimiento de síntesis por etapas, que conduce a un patrón de ramificación altamente regular, a una arquitectura bien definida y un índice de polidispersidad muy bajo<sup>25</sup>.

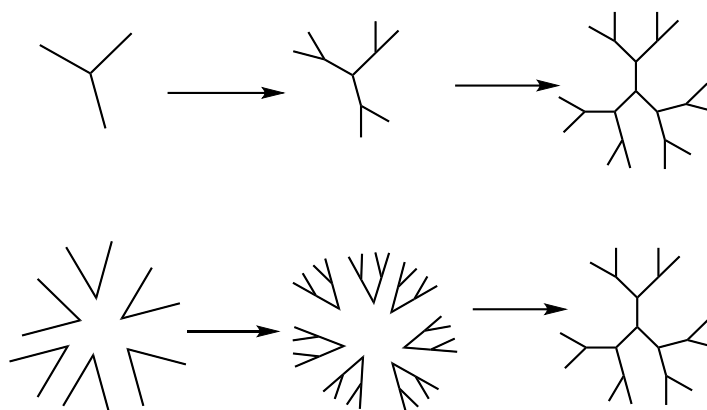
Las tres partes del dendrímero se pueden adaptar específicamente para los fines deseados, por ejemplo, como sensores dendríticos o como *acarreadores de fármacos*. Conforme mayor sea un número de grupos terminales reactivos de un dendrímero de mayor generación, pueden contener un número elevado de grupos funcionales<sup>40</sup>.

Existen varios tipos de dendrímeros<sup>43</sup>, tales como:

- Dendrímeros de poli (amidoamina-organosilicio) (PAMAMOS)
- Dendrímeros de poli (amidoamina) (PAMAM)
- Dendrímeros de poli (propileno imina) (PPI)
- Dendrímeros quirales
- Dendrímeros cristalinos líquidos

#### **2.4.2. Métodos de síntesis (divergente y convergente)**

La síntesis de dendrímeros se lleva a cabo mediante estrategias convergentes o divergentes (ver figura 9). La síntesis fue iniciada por Vögtle y Tomalia, utilizando una ruta divergente, la cual se basa en partir del núcleo y generar sucesivamente generación por generación. La ventaja de una estrategia divergente, es que se pueden sintetizar dendrímeros de mayor generación tales como los dendrímeros de poli (amidoamina) o PAMAM y poli (propileno imina) o PPI<sup>44</sup>.



**Figura 9.** Síntesis de dendrímeros. Arriba: método divergente, Abajo: método convergente<sup>42</sup>.

El método divergente es ideal para la síntesis de grandes cantidades de dendrímeros, porque se produce la duplicación de la masa molar del dendrímero en cada paso de generación-adición. Sin embargo, el elevado número de reacciones que deben realizarse en una sola molécula (con un gran número de sitios de reacción equivalentes), exige transformaciones muy eficientes para evitar defectos<sup>43</sup>. Incluso para transformaciones muy eficientes por generación, el rendimiento del dendrímero G 5.0-PPI "perfecto" sólo será aproximadamente del 25% por el método divergente. El proceso de purificación de los productos es una tarea difícil. Aunado a esto, las reacciones son largas y de varios pasos, siendo estos algunos inconvenientes del método<sup>40</sup>.

Por otra parte, se encuentra el enfoque convergente desarrollado por Hawker y Freché<sup>45</sup> en 1990, en el cual la síntesis se basa en iniciar de la superficie y terminar en el núcleo, donde los dendrones están acoplados entre sí. Se realiza el acoplamiento "uno a uno" de los monómeros, creando así segmentos dendríticos (dendrones), de tamaño creciente a medida que avanza la síntesis. La parte final de la síntesis convergente termina en el núcleo, donde dos o más segmentos dendríticos (dendrones) se unen creando el dendrímero.

La purificación de los productos obtenidos por este método resulta una tarea relativamente fácil. Sin embargo, también existen inconvenientes como, por ejemplo, bajos rendimientos en la síntesis de estructuras grandes. Debido a la aglomeración estérica en las reacciones de los dendrímeros y el núcleo, no se forman altas generaciones de dendrímeros<sup>43</sup>.

Por el método convergente es posible crear estructuras dendríméricas asimétricas. Esto se obtiene gracias a la unión de dos segmentos dendrónicos diferentes juntos de una manera controlada<sup>40</sup>.

Una vez sintetizados los dendrímeros, se analizan fácilmente mediante métodos espectroscópicos, tales como espectrometría de masas, espectroscopía de infrarrojo y espectroscopía de RMN<sup>40</sup>.

### **2.4.3. Propiedades de dendrímeros**

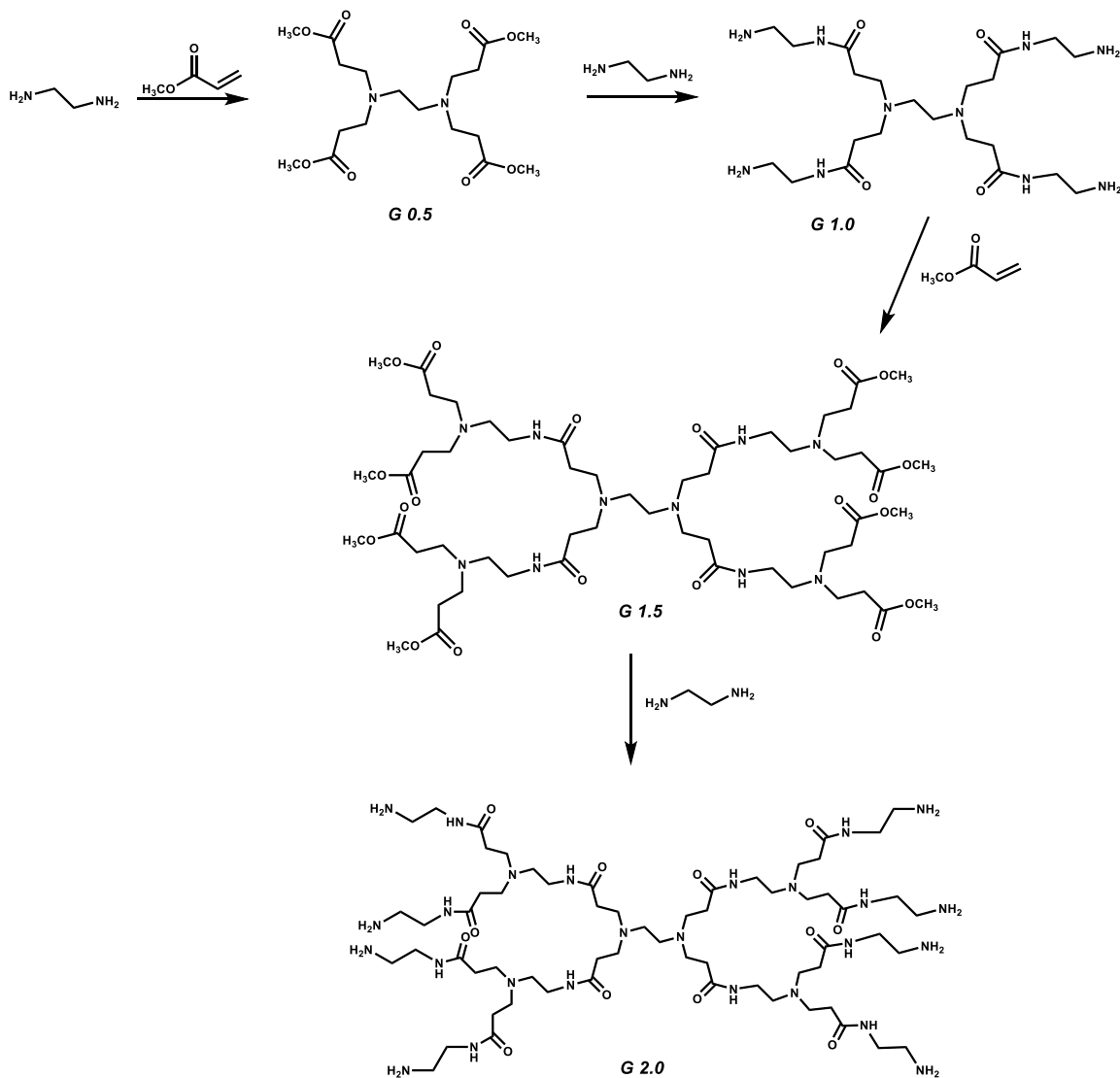
Son solubles en disolventes orgánicos, tales como  $\text{CHCl}_3$ , MeOH, DMF, así como en agua, debido a que los grupos superficiales funcionales los hacen muy hidrófilicos<sup>25</sup>. Además, los dendrímeros terminados en amina ( $G = 1.0, 2.0, 3.0, 4.0$  y  $5.0$ ) presentan generalmente viscosidades intrínsecas superiores con respecto a las generaciones terminada en éster ( $G = 1.5, 2.5, 3.5$  y  $4.5$ )<sup>42</sup>.

Los dendrímeros son monodispersos, puesto que, a diferencia de los polímeros lineales, los dendrímeros son intrínsecamente globulares y pueden ser construidos con una estructura definida con grupos de superficie altamente modificables. El tamaño de los dendrímeros dependerá de la generación, aumentando sistemáticamente con el número de la generación<sup>46</sup>.

Muchas de las propiedades químicas y físicas de los dendrímeros, como reactividad, estabilidad y solubilidad, están relacionadas con la naturaleza de los grupos terminales, sin embargo, el núcleo también aporta propiedades físicas y químicas.

### 2.4.4. Dendrimeros de poli(amidoamina) (PAMAM)

Los dendrimeros tipo PAMAM tienen como molécula núcleo a una partícula de amoníaco o etilendiamina (EDA). La síntesis se lleva a cabo en dos etapas (ver esquema 11), que implican: primero se realiza una adición de Michael (adición 1,4) de un núcleo iniciador de amina con acrilato de metilo, en seguida se realiza una aminólisis con etilendiamina. El primer paso produce una media generación, y luego, la adición de EDA completa la generación, las reacciones sucesivas generan generaciones superiores (G 1.0-G 10.0), permitiendo sus aplicaciones en el suministro de fármacos<sup>42,47</sup>.



**Esquema 11.** Síntesis de dendrimeros tipo PAMAM<sup>42</sup>.

Estudios recientes se han centrado en la preparación, caracterización y funcionalización de dendrímeros de poli (amidoamina) (PAMAM). Una serie de estudios se han centrado en la funcionalización de estos dendrímeros PAMAM hidrofílicos para una variedad de usos. En aplicaciones, tales como soportes de administración de fármacos o agentes quelantes, los dendrímeros iónicos están diseñados para operar en diferentes entornos acuosos con un valor de pH biológico y ambiental relevante como vehículos de transporte invitados. En el caso de los dendrímeros PAMAM de baja generación, los sitios reactivos también se localizan en la periferia<sup>48</sup>.

#### **2.4.5. Los dendrímeros y el cáncer**

El tamaño pequeño y controlable de los dendrímeros, así como su forma, longitud, monodispersidad, alta densidad de ramificación, su funcionalidad superficial, capacidad de captación celular, su sitio-especificidad, hace que aumente la eficiencia del fármaco, haciendo que estos compuestos sean adecuados para muchas aplicaciones farmacéuticas tales como la introducción de ADN a las células, solubilizar fármacos poco solubles y son nanoacarreadores del fármaco<sup>25, 40, 49</sup>.

Los dendrímeros son acarreadores excelentes para la administración selectiva de fármacos en virtud de su pequeño tamaño y la disponibilidad de muchos grupos de superficie para la conjugación con fármacos, además en las cavidades internas del dendrímero se pueden acarrear fármacos, marcadores de formación de imágenes y grupos de diana, estos pueden cargarse con compuestos anticancerígenos y/o sondas de diagnóstico mediante interacciones no covalentes (interacciones iónicas, hidrofóbicas, de enlace de hidrógeno) y enlaces covalentes<sup>45</sup>.

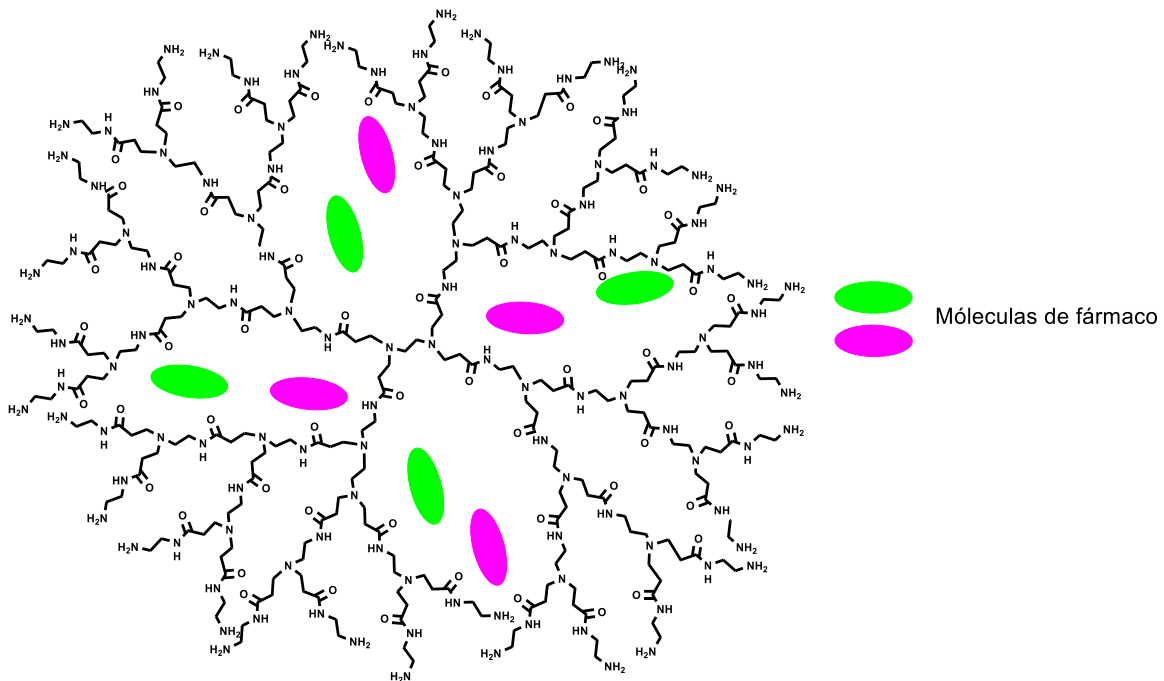
### **2.4.6. Aplicaciones de los dendrímeros tipo PAMAM en la nanomedicina**

Los dendrímeros de poli (amidoamina) (PAMAM) son una nueva clase de polímeros globulares bien diseñados con cavidades interiores y abundantes grupos terminales en la superficie que pueden formar complejos estables con fármacos, ADN plásmido, oligonucleótidos y anticuerpos<sup>40</sup>.

Los fármacos anticancerígenos pueden encapsularse o conjugarse con el dendrímero y administrarse al tumor mediante un efecto de permeabilidad y retención. Los dendrímeros tipo PAMAM presentan características, tales como la biodegradabilidad, la no toxicidad, la no inmunogenicidad y la multifuncionalidad, los cuales son los factores clave que facilitan su aplicación en la administración de fármacos<sup>43</sup>.

### **2.5.0. Conjugados dendriméricos**

La disponibilidad de muchos grupos de superficie de los dendrímeros permite su conjugación con fármacos<sup>45</sup>, es decir, tienen la capacidad de formar sistemas tipo huésped-anfitrión. Los fármacos pueden ser encapsulados dentro de los dendrímeros (ver figura 10), pueden estar unidos químicamente mediante interacciones no covalentes (interacciones iónicas, hidrofóbicas o de enlace de hidrógeno), enlaces covalentes<sup>50</sup>, o bien pueden ser adsorbidos físicamente sobre la superficie del dendrímero, teniendo el potencial de incrementar la solubilidad y reducir la toxicidad de los compuestos farmacéuticos. Con la conjugación de los dendrímeros con un fármaco anticancerígeno se busca que sean biológicamente inertes y que los enlaces sean suficientemente estables durante la circulación en el torrente sanguíneo<sup>51</sup>.

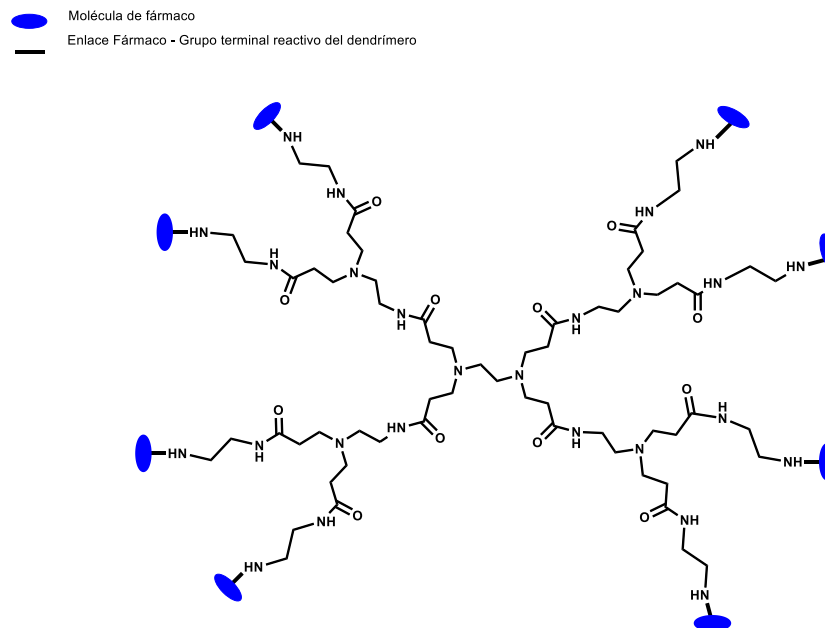


**Figura 10.** Dendrímero PAMAM, portador de las moléculas de fármacos hidrófobas encapsulados en los huecos del dendrímero.

Dado que los dendrímeros se usan como dispositivos de administración de fármacos, estos deben ser: no tóxicos, capaces de atravesar bio barreras (como barreras del tejido sanguíneo, membranas celulares, etc.), poder permanecer en circulación durante el tiempo necesario para tener un efecto clínico, capaces de dirigirse a estructuras específicas<sup>40</sup>. Una vez que se transporta el fármaco, se debe liberar el fármaco. La liberación del fármaco lleva a la célula a la fase de arresto y en consecuencia se induce a la muerte celular<sup>52</sup>.

### 2.5.1. Conjugación covalente de moléculas de fármaco con los grupos terminales de un dendrímero

La conjugación covalente de moléculas de fármaco a la superficie del dendrímero PAMAM (ver figura 11) es un enfoque alternativo al desarrollo del dendrímero PAMAM como portadores de fármacos contra el cáncer. Este enfoque se basa en la multivalencia de los dendrímeros PAMAM. La interacción de los fármacos con el dendrímero PAMAM en sus grupos funcionales terminales son mediante enlaces covalentes es útil para controlar la liberación espacial y temporal de los fármacos unidos<sup>43</sup>.



**Figura 11.** Dendrímero PAMAM conjugado con moléculas de fármacos, es decir, unidos mediante enlaces covalentes.

Los múltiples grupos funcionales de superficie hacen que una molécula de dendrímero sea capaz de transportar múltiples moléculas de fármaco, y el número de moléculas de fármaco conjugado puede variarse usando diferentes generaciones de dendrímeros o cambiando las condiciones de acoplamiento. Se



han usado fármacos como el ibuprofeno<sup>53</sup>, propranolol<sup>54</sup>, ácido 5-aminosalicílico (5-ASA)<sup>55</sup>, ácido cólico<sup>56</sup>, biotina<sup>57</sup>, riboflavina<sup>58</sup>, entre otros.

Se sabe que el 70% de los casos de cáncer son curables si son detectados a tiempo y con un tratamiento adecuado<sup>59</sup>. En los últimos años, se ha estudiado la conjugación de dendrímeros con fármacos como tratamiento contra el cáncer en general. Para el caso muy particular de la leucemia se han realizado estudios con el clorambucilo<sup>13,25</sup>.

Con base en lo mencionado anteriormente sobre el clorambucilo, los resorcinarenos y los dendrímeros, es que en el presente trabajo de investigación se propone unir estas tres moléculas en una sola con el objetivo de contribuir al conocimiento científico de los conjugados dendriméricos.

# Capítulo 3



## Objetivos e Hipótesis

## **3. Objetivos e hipótesis**

### **3.1. Objetivo general**

Realizar síntesis de resorcinaren-dendrimeros tipo PAMAM con una molécula de resorcinareno como núcleo, mediante el método divergente, así como la obtención de compuestos conjugados con clorambucilo.

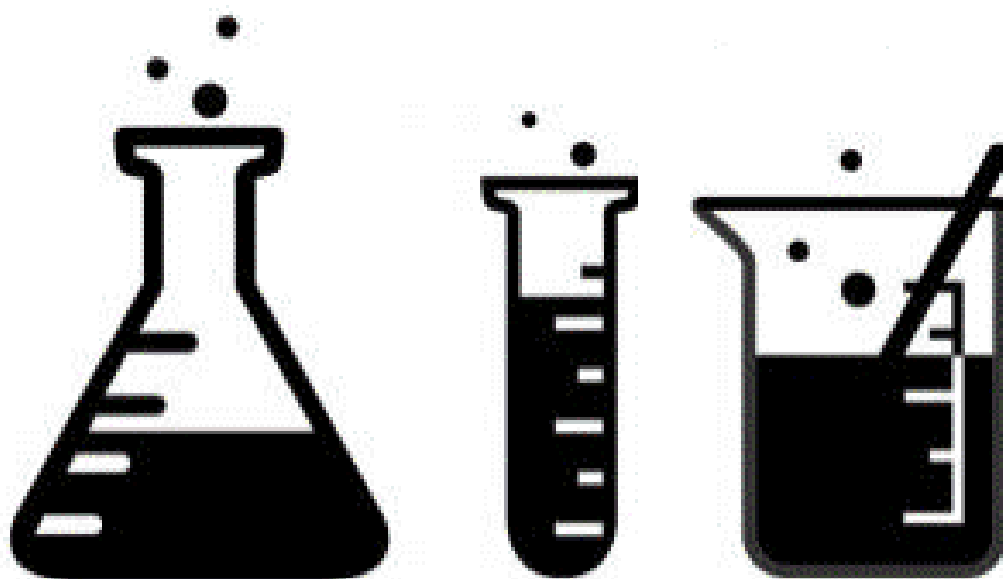
### **3.2. Objetivos particulares**

- Síntesis, purificación y caracterización de los resorcinarenos, con dos diferentes aldehídos (hidrocinamaldehído y dodecanaldehído)
- Síntesis por método divergente y purificación de los resorcinaren-dendrimeros de primera y segunda generación, con dos resorcinarenos diferentes como núcleo.
- Realizar la conjugación entre los resorcinaren-dendrimeros de primera y segunda generación con el clorambucilo.
- Caracterizar cada uno de los compuestos obtenidos mediante técnicas espectrométricas (RMN-<sup>1</sup>H, RMN-<sup>13</sup>C, FTIR, ESI, MALDI-TOF, UV-vis).
- Realizar pruebas actividad citotóxica.

### **3.3. Hipótesis**

Los resorcinaren-dendrimeros tipo PAMAM conjugados con clorambucilo serán selectivos y más activos en comparación con el clorambucilo libre; debido a que poseen un mayor número de moléculas de clorambucilo, en comparación con el clorambucilo libre.

# Capítulo 4



Material y Equipos

## 4. Material y Equipos

### 4.1. Equipos

- **Resonancia Magnética Nuclear**

BRUKER ADVANCE	300 MHz $^1\text{H}$ y 75 MHz $^{13}\text{C}$ .
VARIAN UNITY	300 MHz $^1\text{H}$ y 75 MHz $^{13}\text{C}$ .
Referencia	$^1\text{H}$ Tetrametilsilano ( $\text{Me}_4\text{Si}$ , 0.00 ppm).
Disolventes	Cloroformo deuterado ( $\text{CDCl}_3$ ) Metanol deuterado ( $\text{CD}_3\text{OD}$ ) Dimetil sulfóxido deuterado ( $(\text{CD}_3)_2\text{SO}$ )

- **Espectrofotometría de UV-vis**

Espectrofotómetro UV-vis Cary 50 Bio.

- **Espectrofotometría de FT-IR**

Espectrofotómetro FT-IR MAGNA.700

- **Espectrometría de Masas**

Espectrómetro de masas JEOL JMS AX505 HA.

Espectrómetro de masas Bruker Esquire.

MALDI-TOF Applied Biosystems 4700 Proteomics Analyzer 34000033 Deflector Spec. No. 3.

## 4.2. Reactivos y Disolventes.

- **Reactivos.**

Resorcinol 99% (Aldrich)

Hidrocinnamaldehído (3-fenilpropanal) 90 % (Aldrich)

Dodecanaldehído 92 % (Aldrich)

Ácido Clorhídrico 99% (Aldrich)

Carbonato de Potasio 99 % (Aldrich)

Bromoacetato de metilo 97% (Aldrich)

Etilendiamina 99% (Aldrich)

Acrilato de metilo 99% (Aldrich)

Clorambucilo 98% (Aldrich)

Sílica gel para cromatografía en columna MERCK SILICA GEL 60 Å (MALLA 70-230)

- **Disolventes**

Acetato de Etilo

Acetona

Diclorometano

Hexano

Metanol

Tolueno (Aldrich)

El acetato de etilo, acetona, diclorometano y hexano, fueron purificados por medio de destilación simple empleando como agente desecante hidróxido de potasio (acetato de etilo), cloruro de calcio (acetona y diclorometano) u óxido de calcio (metanol y etanol).

# Capítulo 5

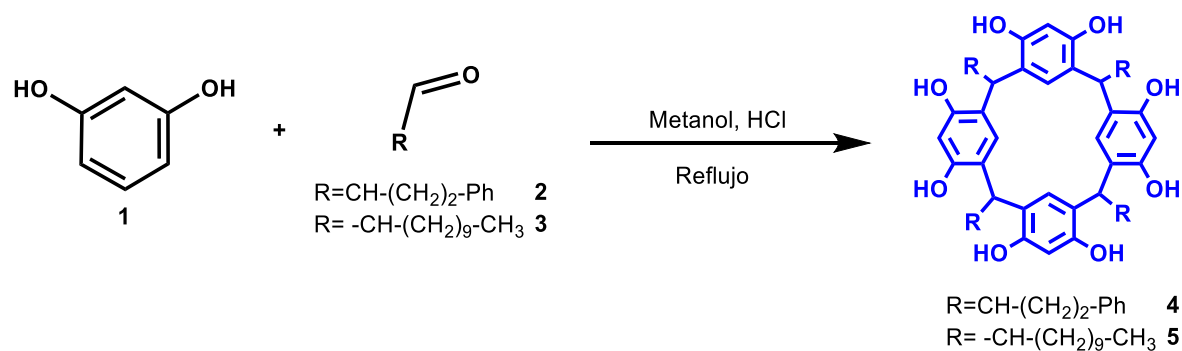


Sección  
experimental

## 5. Sección experimental

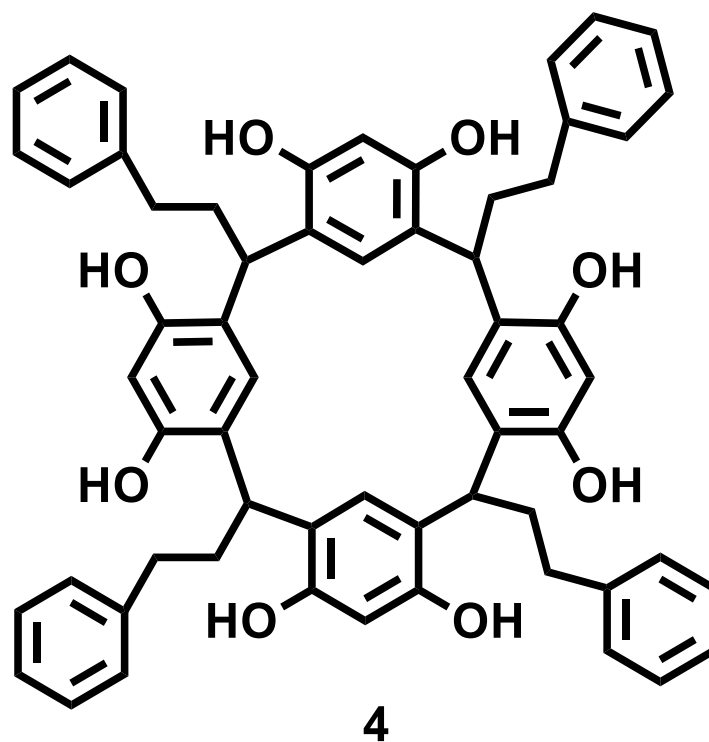
### 5.1.1. Síntesis de los resorcinarenos

Se disolvieron 5.032 g (0.045 mol) de resorcinol **1** en 60 mL de metanol, posteriormente se adicionaron 6.0 mL (0.045 mol) de hidrocinamaldehído **2**, o 8.437 g (0.045 mol) de dodecanaldehído **3**. Posteriormente se adicionó gota a gota 5.0 mL (0.116 mol) de ácido clorhídrico concentrado, la mezcla de reacción se mantuvo a reflujo durante 24 horas. La mezcla de reacción fue monitoreada por cromatografía en capa fina y cuando se observó la ausencia de uno de los reactantes se detuvo la reacción. Se adicionó agua, formándose un precipitado de color amarillo-naranja, el cual fue filtrado y lavado con agua hasta pH=7, obteniéndose los resorcinarenos **4** y **5**, respectivamente.



Esquema 1. Síntesis de los resorcinarenos **4** y **5**



**Caracterización:**

**Rendimiento** 90.0%, 9.270 g (0.01 mol).

**Aspecto** sólido color beige.

**Punto de fusión** > 300 °C.

**IR** (KBr,  $\text{cm}^{-1}$ ): 3255, 3025, 2935, 2862, 1616, 1497, 1449, 1210, 905, 839, 745, 698.

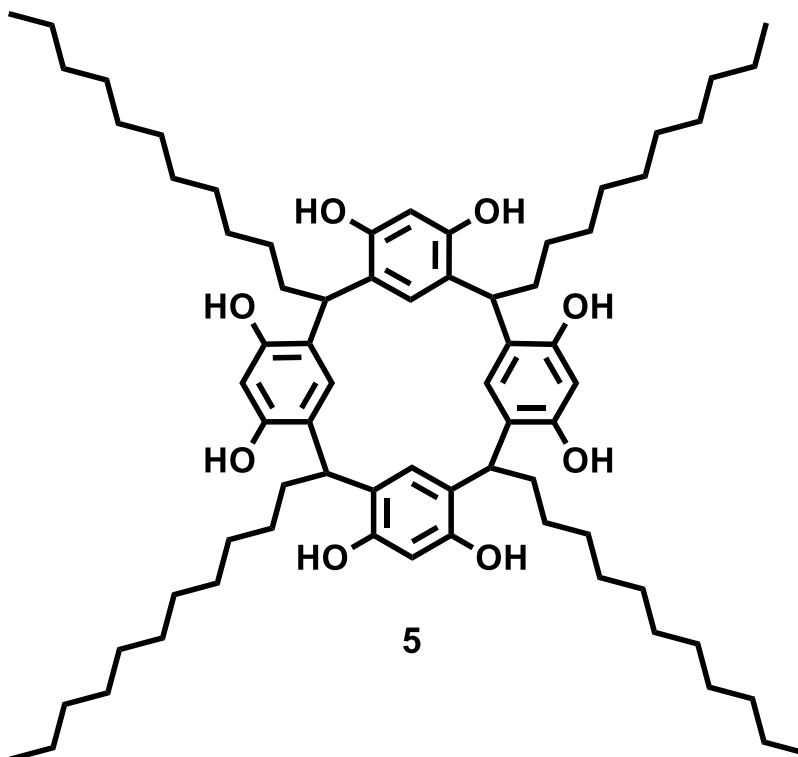
**UV-vis** (MeOH, nm): 213, 258, 286, 383, 422.

**$^1\text{H NMR}$**  ( $\text{CDCl}_3$ , 300 MHz)  $\delta$  (ppm): 2.10 (s, 8H,  $\text{CH}_2$ ), 2.61 (s, 8H,  $\text{CH}_2$ ), 3.79 (s, 4H, CH), 6.19 (s, 4H, CH), 7.18 (s, 20H, Ar), 7.26 (s, 4H, Ar), 9.60 (s, 8H, OH).

**$^{13}\text{C NMR}$**  ( $\text{CDCl}_3$ , 75 MHz)  $\delta$  (ppm): 34.0 ( $\text{CH}_2$ ), 35.2 ( $\text{CH}_2$ ), 36.7 (CH), 104.0 (Ar), 123.8 (Ar), 124.8 ( $\text{Ar}_{\text{ipso}}$ ), 126.2 (Ar), 128.9 (Ar), 129.0 (Ar), 142.7 ( $\text{Ar}_{\text{ipso}}$ ), 152.3 (Ar-O).

**EM ESI** (m/z): 904.38

**Análisis Elemental calculado para**  $\text{C}_{60}\text{H}_{56}\text{O}_8$ : C: 79.62, H: 6.24, O: 14.14 %.

**Caracterización:**

**Rendimiento** 80.0%, 7.950 g (0.007 mol).

**Aspecto** sólido color terracota.

**Punto de fusión** > 300 °C.

**IR** (KBr,  $\text{cm}^{-1}$ ): 3248, 2921, 2851, 1613, 1498, 1451, 1215, 899, 837, 719.

**UV-vis** (MeOH, nm): 207, 268, 286, 393, 421.

**$^1\text{H NMR}$**  ( $\text{CDCl}_3$ , 300 MHz)  $\delta$  (ppm): 0.88 (t, 12H,  $\text{CH}_3$ ,  $J = 6.0$  Hz), 1.24 (s, 72H,  $\text{CH}_2$ ), 2.14 (s, 8H,  $\text{CH}_2$ ), 4.28 (s, 4H, CH), 6.07 (s, 4H, Ar), 7.17 (s, 4H, Ar).

**$^{13}\text{C NMR}$**  ( $\text{CDCl}_3$ , 75 MHz)  $\delta$  (ppm): 14.2 ( $\text{CH}_3$ ), 22.8 ( $\text{CH}_2$ ), 28.1 ( $\text{CH}_2$ ), 29.5 ( $\text{CH}_2$ ), 29.8 ( $\text{CH}_2$ ), 31.0 ( $\text{CH}_2$ ), 32.0 ( $\text{CH}_2$ ), 33.0 ( $\text{CH}_2$ ), 33.5 ( $\text{CH}_2$ ), 34.2 (CH), 102.5 (Ar), 124.8 ( $\text{Ar}_{\text{ipso}}$ ), 151.1 (Ar-O).

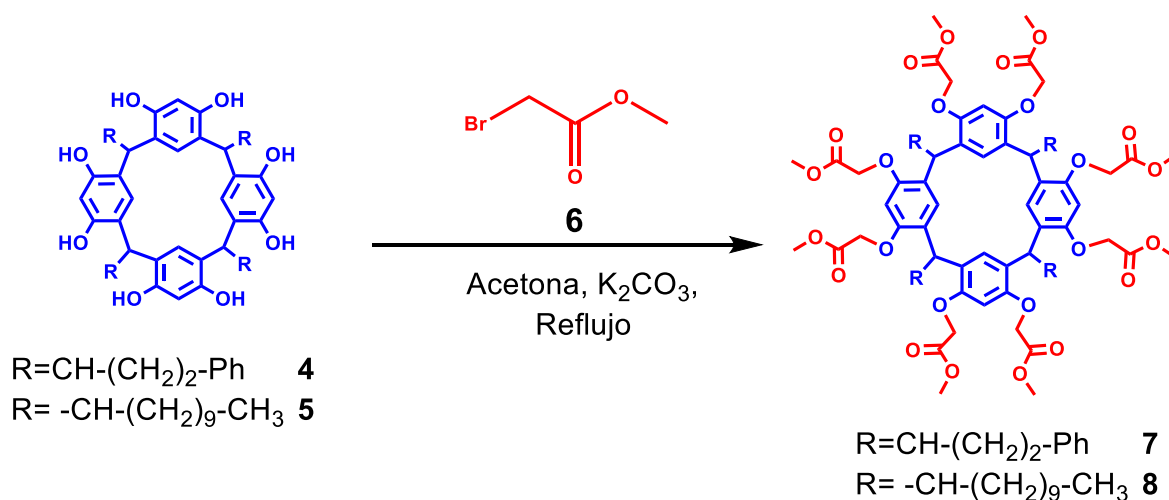
**EM ESI** (m/z): 1147.9

**Análisis Elemental calculado para:**  $\text{C}_{72}\text{H}_{112}\text{O}_8$ : C: 78.21, H:10.21, O: 11.58 %.

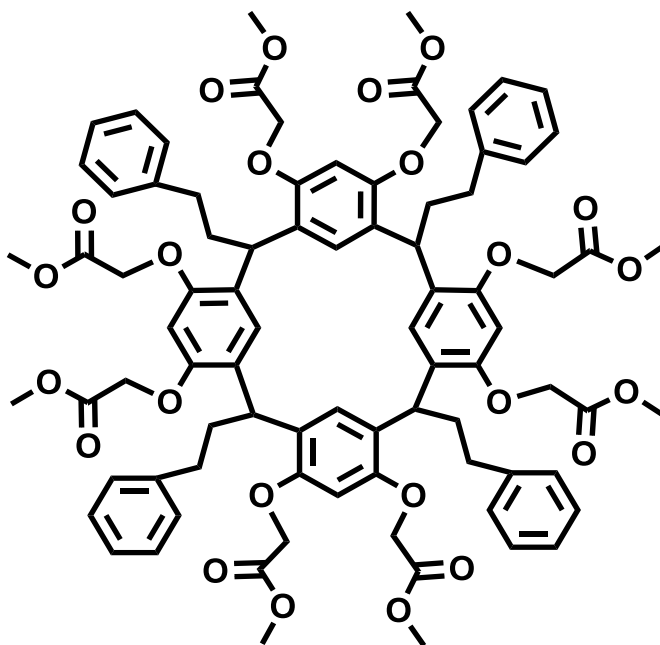
### 5.1.2. Síntesis de los resorcinaren-dendrimeros de generación 0.5

Se disolvieron 1.030 g (1.140 mmol) de **4** o 1.554 g (1.408 mmol) de **5** en 40 mL acetona anhidra, la mezcla de reacción se mantuvo en un baño de hielo y se le añadió 1.537 g (0.011 mol) de carbonato de potasio, se dejó en agitación durante 15 minutos, posteriormente se adicionaron gota a gota 1.0 mL (0.010 mol) de bromoacetato de metilo **6**. La mezcla de reacción se mantuvo a temperatura ambiente y en agitación durante 48 horas. La mezcla de reacción fue monitoreada por cromatografía en capa fina y cuando se observó la ausencia de uno de los reactantes se detuvo la reacción y se filtró la mezcla de reacción sobre sulfato de sodio (para retener el carbonato de potasio).

En seguida se evaporó el disolvente del filtrado, obteniéndose un líquido viscoso, el cual se lavó varias veces con hexano. Se disolvió el líquido viscoso en acetato de etilo y se precipitó con hexano. Finalmente, el sólido obtenido se filtró al vacío, obteniéndose los resorcinaren-dendrimeros G 0.5 **7** y **8**, respectivamente.

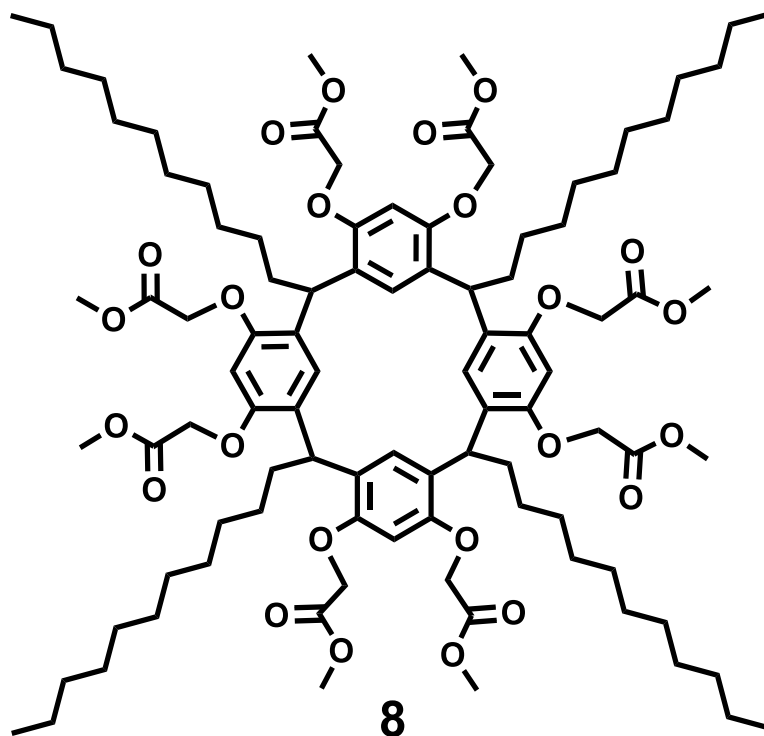


**Esquema 2.** Síntesis de los resorcinaren-dendrimeros **7** y **8** de generación 0.5.



7

**Caracterización:****Rendimiento** 52.0%, 1.528 g (1.032 mmol).**Aspecto** sólido color terracota.**Punto de fusión** > 300 °C.**IR** (KBr,  $\text{cm}^{-1}$ ): 2920, 2850, 1759, 1438, 1204, 903, 847, 704.**UV-vis** (MeOH, nm): 211, 258, 282, 375, 422. **$^1\text{H NMR}$**  ( $\text{CDCl}_3$ , 300 MHz)  $\delta$  (ppm): 2.52-2.71 (m, 16H,  $\text{CH}_2$ ), 3.65 (s, 24H,  $\text{CH}_3\text{-O}$ ), 3.79 (sa 4H, CH), 4.46 (s, 16H,  $\text{CH}_2\text{-O}$ ), 6.14 (s, 4H, Ar), 6.20 (s, 4H, Ar), 7.16 (sa, 20H, Ar). **$^{13}\text{C NMR}$**  ( $\text{CDCl}_3$ , 75 MHz)  $\delta$  (ppm): 35.4 ( $\text{CH}_2$ ), 36.5 (CH), 52.4 ( $\text{CH}_3\text{-O}$ ), 66.4 ( $\text{CH}_2\text{-O}$ ), 126.1 (Ar), 128.9 (Ar), 143.1 ( $\text{Ar}_{\text{ipso}}$ ), 153.5 (Ar-O), 170.6 (C=O).**EM MALDI-TOF** (m/z): 1480.3**Análisis Elemental calculado para:**  $\text{C}_{84}\text{H}_{88}\text{O}_{24}$ : C: 68.10, H: 5.99, O: 25.92 %.

**Caracterización:**

**Rendimiento** 48.0%, 1.142 g (0.692 mmol)

**Aspecto** sólido color blanco.

**Punto de fusión** > 300 °C.

**IR** (KBr,  $\text{cm}^{-1}$ ): 3083, 3060, 3025, 2922, 2853, 1745, 1606, 1495, 1222, 905, 831, 746, 698.

**UV-vis** (MeOH, nm): 210, 258, 285, 409, 421.

**$^1\text{H NMR}$**  ( $\text{CDCl}_3$ , 300 MHz)  $\delta$  (ppm): 0.88 (t, 12H,  $\text{CH}_3$ ,  $J = 6.0$  Hz), 1.25 (m, 72H,  $\text{CH}_2$ ), 1.87 (sa, 8H,  $\text{CH}_2$ ), 3.78 (s, 24H,  $\text{CH}_3\text{-O}$ ), 4.36 (s, 16H,  $\text{CH}_2\text{-O}$ ), 4.59 (t, 4H, CH,  $J = 7.05$  Hz), 6.26 (s, 4H, Ar), 6.64 (s, 4H, Ar).

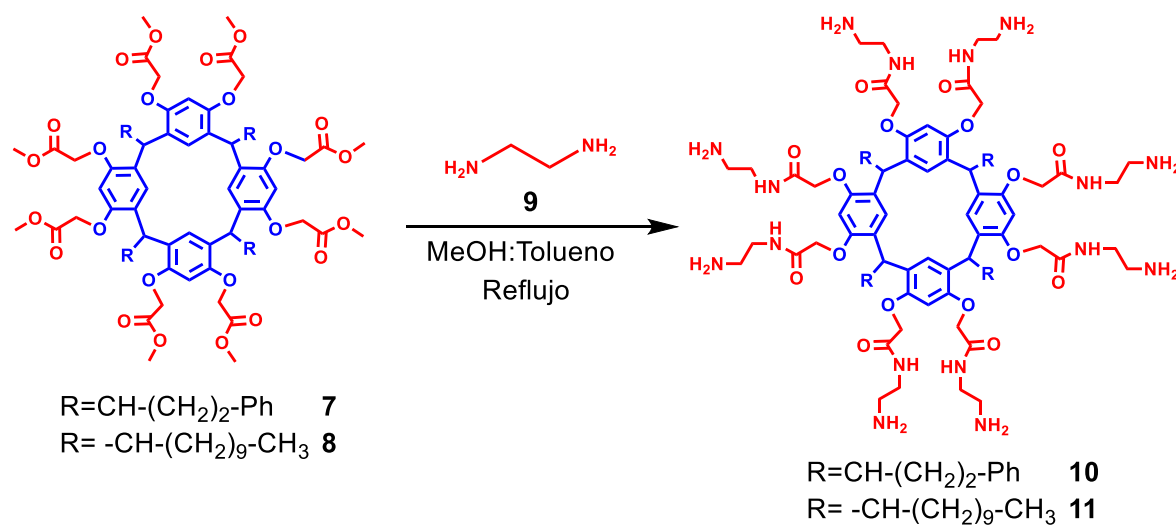
**$^{13}\text{C NMR}$**  ( $\text{CDCl}_3$ , 75 MHz)  $\delta$  (ppm): 14.4 ( $\text{CH}_3$ ), 23.1 ( $\text{CH}_2$ ), 28.5 ( $\text{CH}_2$ ), 29.8 ( $\text{CH}_2$ ), 30.1 ( $\text{CH}_2$ ), 30.2 ( $\text{CH}_2$ ), 32.4 ( $\text{CH}_2$ ), 34.9 ( $\text{CH}_2$ ), 36.2 (CH), 52.4 ( $\text{CH}_3\text{-O}$ ), 67.5 ( $\text{CH}_2\text{-O}$ ), 101.3 (Ar), 127.1 (Ar), 129.0 ( $\text{Ar}_{ipso}$ ), 154.9 (Ar-O), 170.7 (C=O).

**EM (MALDI-TOF):** 1682.4

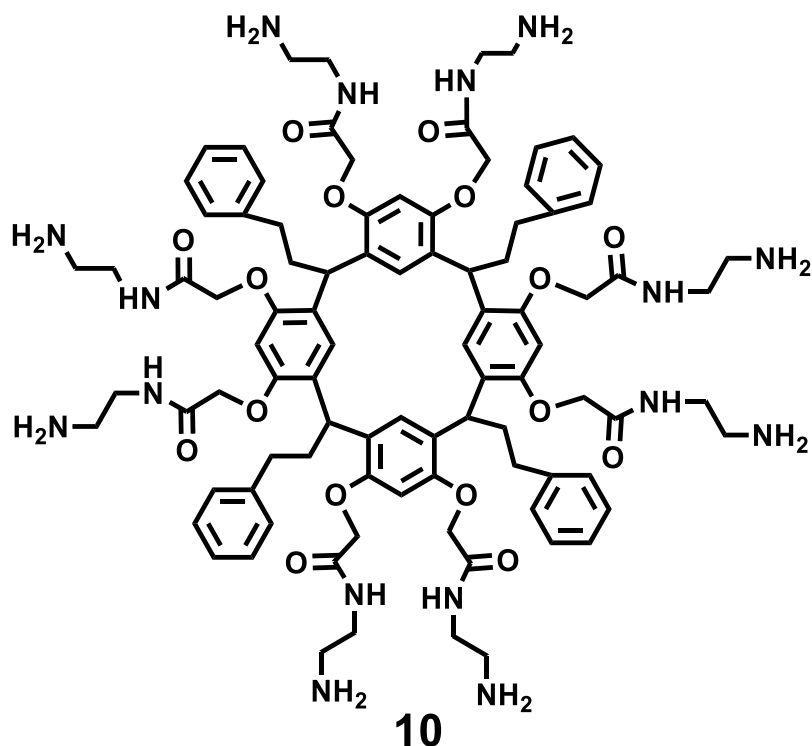
**Análisis Elemental calculado para  $\text{C}_{96}\text{H}_{144}\text{O}_{24}$ :** C: 68.55, H: 8.63, O: 22.83 %.

### 5.1.3. Síntesis de los resorcinaren-dendrimeros tipo PAMAM de generación 1.0

Se disolvieron 1.954 g (1.320 mmol) **7** o 2.054 g (1.244 mmol) de **8** en una mezcla metanol y tolueno (5:1). Se adicionaron gota a gota 0.8 mL (0.012 mol) de etilendiamina **9**. La mezcla de reacción se mantuvo a reflujo durante 24 horas. La mezcla de reacción fue monitoreada por cromatografía en capa fina y cuando se observó la ausencia de uno de los reactantes se detuvo la reacción y se evaporó el disolvente, se realizaron varios lavados con hexano, se disolvió el líquido viscoso con acetato de etilo, posteriormente se precipitó con hexano. Finalmente, el sólido obtenido se filtró al vacío obteniéndose los compuestos **10** y **11**, respectivamente.



**Esquema 3.** Síntesis de los resorcinaren-dendrimeros **10** y **11** de generación 1.0.

**Caracterización:**

**Rendimiento** 92.3%, 1.917 g (1.101 mmol).

**Aspecto** sólido color café.

**Punto de fusión** > 300 °C.

**IR** (KBr,  $\text{cm}^{-1}$ ): 3367, 3025, 2928, 2860, 1654, 1561, 1495, 745, 697.

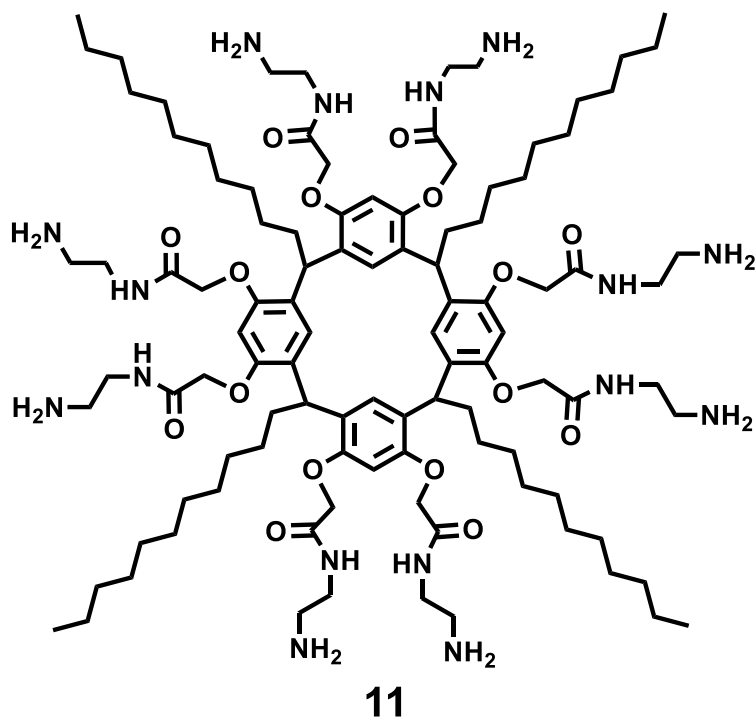
**UV-vis** (MeOH, nm): 210, 264, 284.

**$^1\text{H NMR}$**  ( $\text{CDCl}_3$ , 300 MHz)  $\delta$  (ppm): 2.05 (sa, 16H,  $\text{CH}_2$ ), 2.58 (sa, 16H,  $\text{CH}_2\text{-NH}_2$ ), 3.35 (sa, 16H,  $\text{CH}_2\text{-NH}$ ), 3.66 (sa, 16H,  $\text{NH}_2$ ), 4.27 (sa, 16H,  $\text{CH}_2\text{-O}$ ), 4.68 (sa, 4H, CH), 5.35 (sa, 8H, NH), 6.37 (m, 8H, Ar), 7.16 (m, 20H, Ar).

**$^{13}\text{C NMR}$**  ( $\text{CDCl}_3$ , 75 MHz)  $\delta$  (ppm): 29.3 ( $\text{CH}_2$ ), 31.8 ( $\text{CH}_2$ ), 34.9 (CH), 38.3 ( $\text{CH}_2\text{-NH}_2$ ), 43.4 ( $\text{CH}_2\text{-NH}$ ), 67.4 ( $\text{CH}_2\text{-O}$ ), 125.9 ( $\text{Ar}_{\text{ipso}}$ ), 128.6 (Ar), 142.5 ( $\text{Ar}_{\text{ipso}}$ ), 154.0 (Ar-O), 170.1 (C=O).

**EM (m/z):** 1706.9

**Análisis Elemental calculado para:**  $\text{C}_{92}\text{H}_{120}\text{N}_{16}\text{O}_{16}$ : C: 64.77, H: 7.09, N: 13.14, O: 15.00 %.

**Caracterización:**

**Rendimiento** 93.3%, 2.115 g (1.111 mmol).

**Aspecto** sólido color café.

**Punto de fusión** > 300 °C.

**IR** (KBr,  $\text{cm}^{-1}$ ): 3395, 3302, 3084, 2921, 2851, 1664, 1532, 1497, 823, 719.

**UV-vis** (MeOH, nm): 206, 268, 282, 393, 422.

**$^1\text{H NMR}$**  ( $\text{CDCl}_3$ , 300 MHz)  $\delta$  (ppm): 0.87 (t, 12H,  $\text{CH}_3$ ,  $J = 6.0$  Hz), 1.24 (s, 72H,  $\text{CH}_2$ ), 1.92 (sa, 8H,  $\text{CH}_2$ ), 2.89 (sa, 16H,  $\text{CH}_2\text{-NH}_2$ ), 3.36 (sa, 16H,  $\text{NH}_2$ ), 3.43 (sa, 16H,  $\text{CH}_2\text{-NH}$ ), 4.28 (sa, 16H,  $\text{CH}_2\text{-O}$ ), 4.73 (sa, 4H, CH), 5.91 (sa, 8H, NH), 6.36-6.51 (m, 4H, Ar), 7.26 (sa, 4H, Ar).

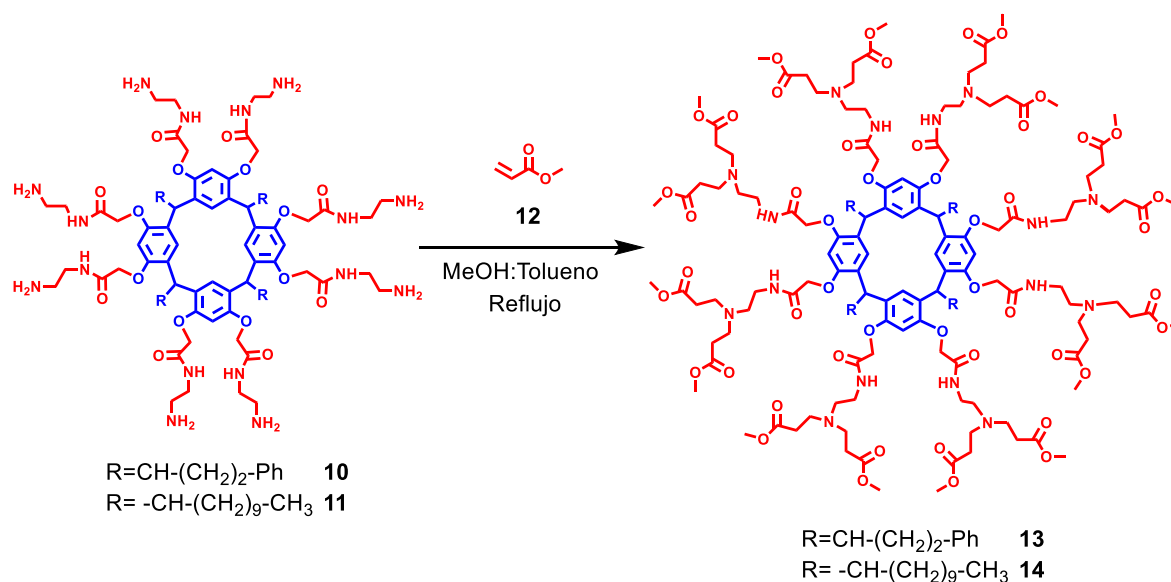
**$^{13}\text{C NMR}$**  ( $\text{CDCl}_3$ , 75 MHz)  $\delta$  (ppm): 14.3 ( $\text{CH}_3$ ), 23.1 ( $\text{CH}_2$ ), 29.8 ( $\text{CH}_2$ ), 30.2 ( $\text{CH}_2$ ), 32.3 ( $\text{CH}_2$ ), 33.7 ( $\text{CH}_2$ ), 34.4 (CH), 37.6 ( $\text{CH}_2$ ), 41.4 ( $\text{CH}_2\text{-NH}_2$ ), 42.0 ( $\text{CH}_2\text{-NH}$ ), 69.2 ( $\text{CH}_2\text{-O}$ ), 123.4 (Ar), 127.3 (Ar), 129.1 ( $\text{Ar}_{\text{ipso}}$ ), 153.4 (Ar-O), 169.8 (C=O).

**EM MALDI-TOF** (m/z): 1906.6

**Análisis Elemental calculado para:**  $\text{C}_{104}\text{H}_{176}\text{N}_{16}\text{O}_{16}$ : C: 65.52, H: 9.30, N: 11.75, O: 13.43 %.

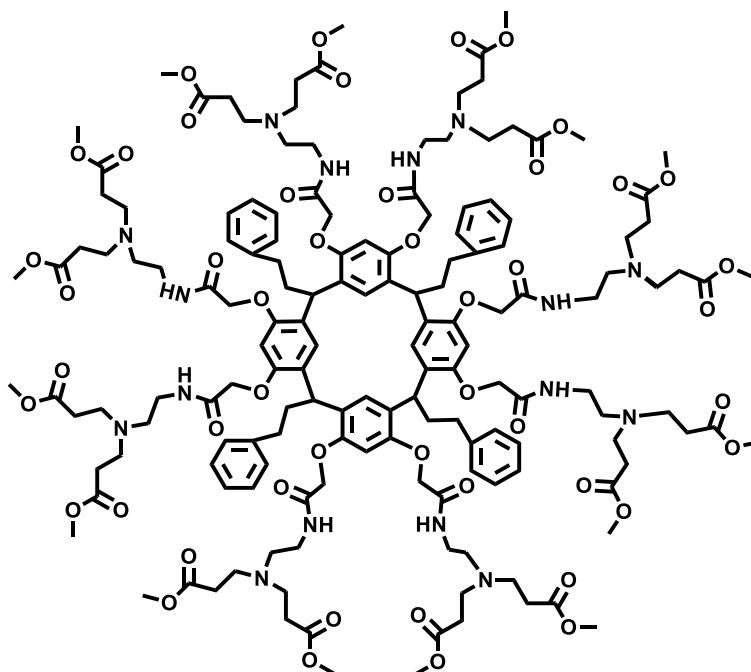


### 5.1.4. Síntesis de los resorcinaren-dendrimeros tipo PAMAM de generación 1.5



#### Esquema 4. Síntesis de los resorcinaren-dendrimeros **13** y **14** de generación 1.5.

Se disolvieron 1.729 g (0.998 mmol) de **10** o 1.934 g (1.016 mol) de **11** en una mezcla metanol y tolueno (5:1). Se adicionaron gota a gota 1.5 mL (0.016 mol) de acrilato de metilo **12**. La mezcla de reacción se mantuvo a reflujo durante 96 horas. La mezcla de reacción fue monitoreada por cromatografía en capa fina y cuando se observó la ausencia de uno de los reactantes se detuvo la reacción y se evaporó el disolvente, se realizaron varios lavados con hexano. Se disolvió el líquido viscoso en diclorometano, posteriormente se precipitó con hexano. Finalmente, el sólido obtenido se filtró al vacío, obteniéndose los compuestos **13** y **14** respectivamente.



13

**Caracterización:**

**Rendimiento** 55.8%, 1.729 g (0.561 mmol).

**Aspecto** sólido color café claro.

**Punto de fusión** > 300 °C.

**IR** (KBr,  $\text{cm}^{-1}$ ): 3399, 3081, 3024, 2944, 2853, 1730, 1668, 1497, 1103, 909, 933, 748, 698.

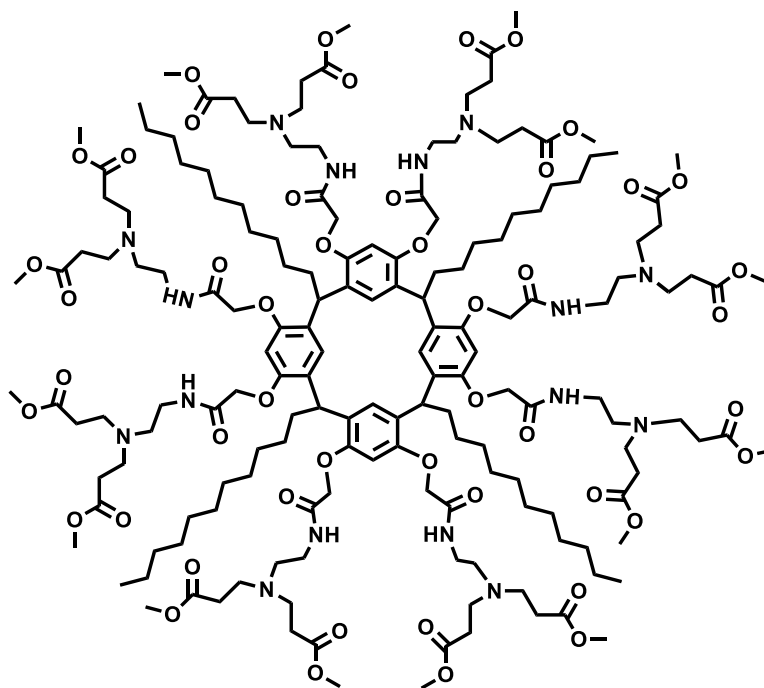
**UV-vis** (MeOH, nm): 206, 214, 283.

**$^1\text{H NMR}$**  ( $\text{CDCl}_3$ , 300 MHz)  $\delta$  (ppm): 2.40 (sa, 32H,  $\text{CH}_2\text{-C=O}$ ), 2.56 (sa, 32H,  $\text{CH}_2\text{-N}$ ), 2.71 (sa, 16H,  $\text{CH}_2$ ), 3.06 (sa, 16H,  $\text{CH}_2\text{-NH}$ ), 3.58 (sa, 48H,  $\text{CH}_3\text{-O}$ ), 4.16 (s, 4H, CH), 4.31 (t, 16H,  $\text{N-CH}_2$ ,  $J=9.0$  Hz), 4.47 (sa, 16H,  $\text{CH}_2\text{-O}$ ), 5.89 (sa, 8H, NH), 6.25-6.70 (m, 8H, Ar), 7.09 (sa, 20H, Ar).

**$^{13}\text{C NMR}$**  ( $\text{CDCl}_3$ , 75 MHz)  $\delta$  (ppm): 31.5 ( $\text{CH}_2$ ), 32.5 ( $\text{CH}_2$ ), 34.2 ( $\text{CH}_2\text{-C=O}$ ), 37.1 (CH), 49.1 ( $\text{NH-CH}_2$ ), 51.6 ( $\text{O-CH}_3$ ), 52.5 ( $\text{CH}_2\text{-N}$ ), 67.2 ( $\text{CH}_2\text{-N}$ ), 125.9 (Ar), 126.9 ( $\text{Ar}_{\text{ipso}}$ ), 127.2 (Ar), 128.3 (Ar), 130.2 (Ar), 141.8 ( $\text{Ar}_{\text{ipso}}$ ), 154.3 (Ar-O), 168.8 (C=O) [1], 173.1 (C=O) [2].

**EM MALDI-TOF** (m/z): 3082.1.

**Análisis Elemental calculado para:** C<sub>156</sub>H<sub>216</sub>N<sub>16</sub>O<sub>48</sub>: C: 60.77, H: 7.06, N: 7.27, O: 24.91 %.



14

**Caracterización:**

**Rendimiento** 32.6%, 1.102 g (0.337 mmol).

**Aspecto** sólido color beige.

**Punto de fusión** > 300 °C.

**IR** (KBr, cm<sup>-1</sup>): 3398, 2922, 2851, 1753, 1677, 1530, 1500, 1438, 1194, 1049, 911, 833, 719, 558.

**UV-vis** (MeOH, nm): 211, 257, 282.

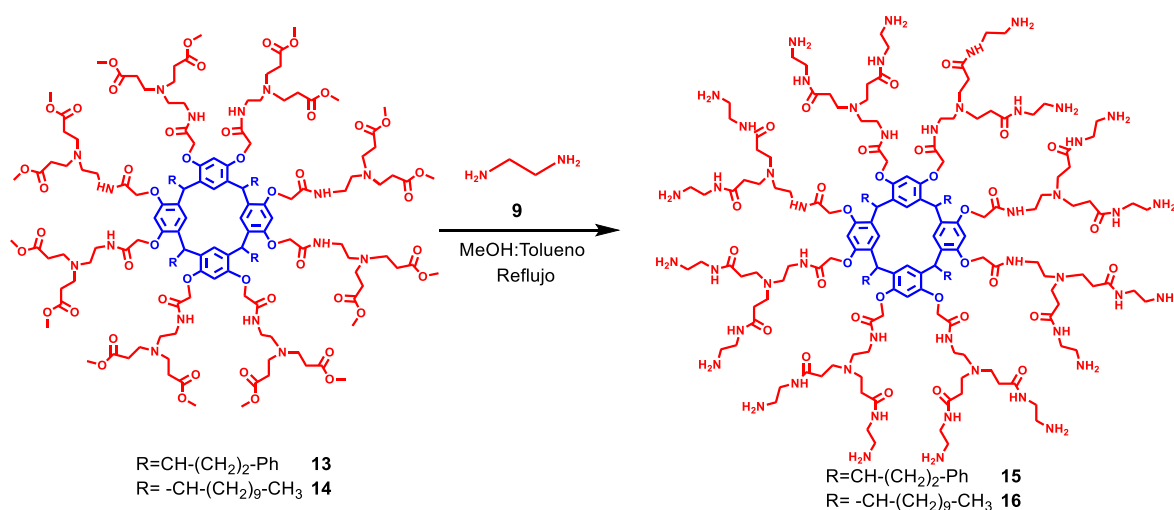
**<sup>1</sup>H NMR** (CDCl<sub>3</sub>, 300 MHz) δ (ppm): 0.86 (t, 12H, CH<sub>3</sub>, *J* = 6.0 Hz), 1.22 (s, 72H, CH<sub>2</sub>), 1.88 (sa, 8H, CH<sub>2</sub>), 2.43 (sa, 32H, CH<sub>2</sub>-C=O), 2.63 (sa, 16H, CH<sub>2</sub>-N), 2.77 (sa, 32H, N-CH<sub>2</sub>), 3.52 (sa, 16H, CH<sub>2</sub>-NH), 3.62 (sa, 48H, CH<sub>3</sub>-O), 4.46 (sa, 4H, CH), 4.71 (sa, 16H, CH<sub>2</sub>-O), 5.85 (sa, 8H, NH), 6.53 (sa, 4H, Ar), 7.27 (sa, 4H, Ar).

**<sup>13</sup>C NMR** (CDCl<sub>3</sub>, 75 MHz) δ (ppm): 14.2 (CH<sub>3</sub>), 22.7 (CH<sub>2</sub>), 28.6 (CH<sub>2</sub>), 29.4 (CH<sub>2</sub>), 29.9 (CH<sub>2</sub>), 30.2 (CH<sub>2</sub>), 32.0 (CH<sub>2</sub>), 32.6 (CH<sub>2</sub>-C=O), 36.8 (CH), 37.2 (NH-CH<sub>2</sub>), 49.3 (N-CH<sub>2</sub>), 51.0 (O-CH<sub>3</sub>), 52.9 (CH<sub>2</sub>-N), 67.9 (CH<sub>2</sub>-O), 121.9 (Ar), 126.9 (Ar), 128.3 (Ar), 129.8 (Ar<sub>ipso</sub>), 154.3 (Ar-O), 168.6 (C=O) [1], 173.0 (C=O) [2].

EM MALDI-TOF (m/z): 3282.2

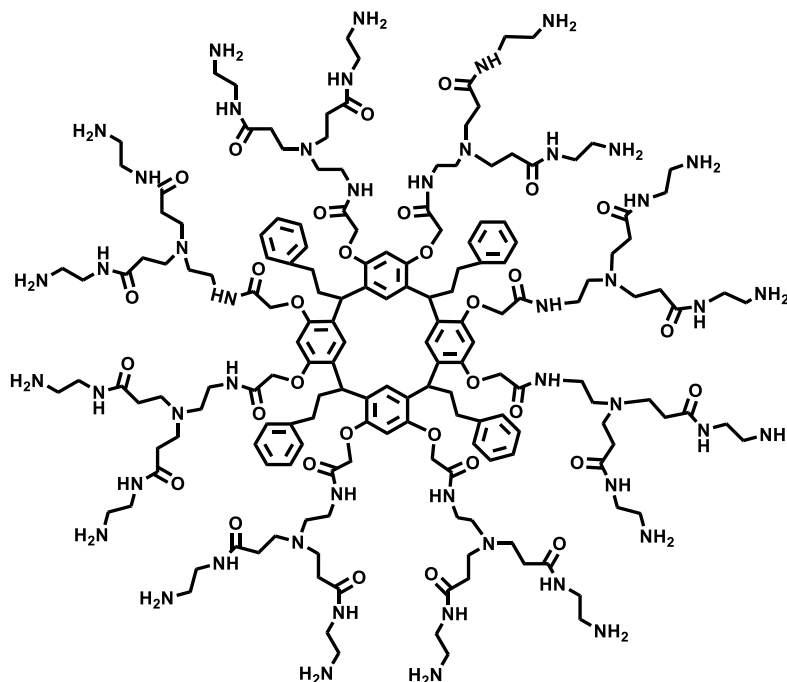
Análisis Elemental calculado: C: 61.34%, H: 8.32%, N: 6.85%, O: 23.48%.

### 5.1.5. Síntesis de los resorcinaren-dendrimeros tipo PAMAM de generación 2.0



#### Esquema 5. Síntesis de los resorcinaren-dendrimeros **15** y **16** de generación 2.0.

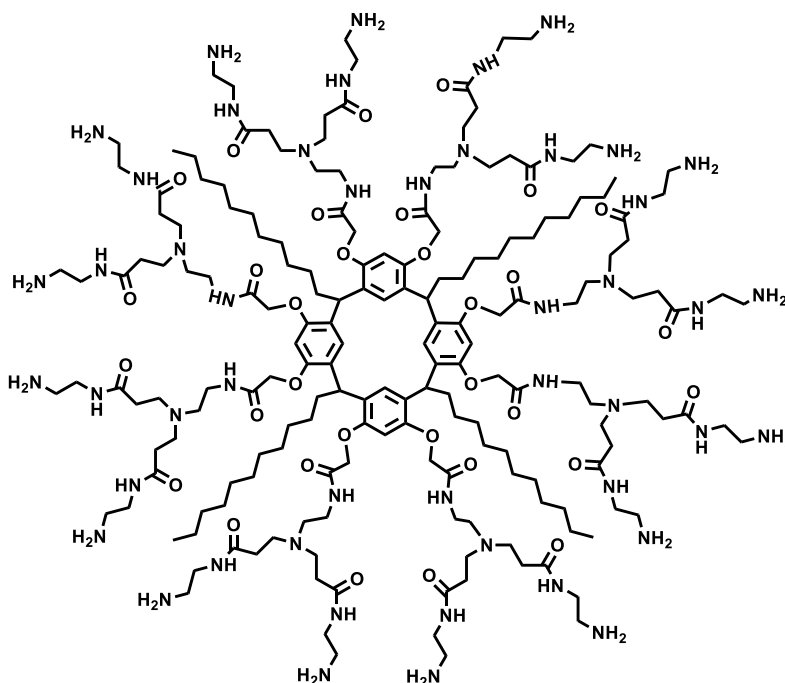
Se disolvieron 0.809 g (0.262 mmol) de **13** o 0.848 g (0.227 mmol) de **14** en una mezcla de metanol y tolueno (5:1). Se adicionaron gota a gota 0.3 mL (4.195 mmol) de etilendiamina **9**. La mezcla de reacción se mantuvo a reflujo durante 96 horas. La mezcla de reacción fue monitoreada por cromatografía en capa fina y cuando se observó la ausencia de uno de los reactantes se detuvo la reacción y se evaporó el disolvente. Se realizaron varios lavados con hexano, se disolvió el líquido viscoso en una mezcla diclorometano y metanol, posteriormente se precipitó con acetato de etilo. Finalmente, el sólido obtenido se filtró al vacío, obteniéndose **15** y **16** respectivamente.



15

**Caracterización:****Rendimiento** 71.4%, 0.659 g (0.186 mmol).**Aspecto** sólido color café.**Punto de fusión** > 300 °C.**IR** (KBr,  $\text{cm}^{-1}$ ): 3701, 3677, 3397, 2973, 2942, 2866, 2844, 1662, 1497, 1347, 1055, 1030, 1012, 699.**UV-vis** (MeOH, nm): 210, 262, 283. **$^1\text{H NMR}$**  ( $\text{CDCl}_3$ , 300 MHz)  $\delta$  (ppm): 1.90 (sa, 32H,  $\text{CH}_2\text{-C=O}$ ), 2.17 (sa, 16H,  $\text{CH}_2$ ), 2.75 (sa, 32H,  $\text{N-CH}_2$ ), 3.28 (sa, 16H,  $\text{NH}_2\text{-CH}_2$ ), 3.41 (sa, 16H,  $\text{NH-CH}_2$ ), 3.60 (sa, 32H,  $\text{CH}_2\text{-N}$ ), 3.75 (sa, 32H,  $\text{CH}_2\text{-NH}$ ), 4.31 (m, 4H, CH), 4.48 (sa, 16H,  $\text{CH}_2\text{-O}$ ), 5.31 (sa, 32H,  $\text{NH}_2$ ), 6.42-6.51 (m, 8H, Ar), 7.09 (sa, 20H, Ar), 8.18 (s, 24H, NH). **$^{13}\text{C NMR}$**  ( $\text{CDCl}_3$ , 75 MHz)  $\delta$  (ppm): 31.7 ( $\text{CH}_2$ ), 32.5 ( $\text{CH}_2$ ), 34.3 ( $\text{CH}_2\text{-C=O}$ ), 37.3 (CH), 41.6 ( $\text{NH}_2\text{-CH}_2$ ), 49.1 ( $\text{N-CH}_2$ ), 52.5 ( $\text{CH}_2\text{-N}$ ), 67.2 ( $\text{CH}_2\text{-N}$ ), 125.9 (Ar), 126.9 ( $\text{Ar}_{\text{ipso}}$ ), 127.8 (Ar), 128.3 (Ar), 129.2 (Ar), 142.8 ( $\text{Ar}_{\text{ipso}}$ ), 155.3 (Ar-O), 170.8 (C=O) [1], 174.1 (C=O) [2].**EM MALDI-TOF** (m/z): 3532.8

**Análisis Elemental calculado para:**  $C_{172}H_{280}N_{48}O_{32}$ : C: 58.48, H: 7.99, N: 19.03, O: 14.49 %.



16

### Caracterización:

**Rendimiento** 62.0%, 0.606 g (1.626 mmol)

**Aspecto** sólido color beige.

**Punto de fusión** > 300 °C.

**IR** (KBr,  $cm^{-1}$ ): 3395, 3299, 3082, 2921, 2851, 1661, 1533, 1499, 1438, 1283, 1188, 1051, 910, 823, 718, 565.

**UV-vis** (MeOH, nm): 205, 258, 282, 325.

**$^1H$  NMR** ( $CDCl_3$ , 400 MHz)  $\delta$  (ppm): 0.88 (t, 12H,  $CH_3$ ,  $J = 8$  Hz), 1.24 (s, 72H,  $CH_2$ ), 1.89 (sa, 8H,  $CH_2$ ), 2.45 (sa, 32H,  $CH_2-C=O$ ), 2.65 (sa, 16H, N- $CH_2$ ), 2.78 (sa, 32H,  $CH_2-NH_2$ ), 3.39 (sa, 16H,  $CH_2-NH$ ), 3.49 (sa, 32H,  $CH_2-NH$ ), 3.64 (sa, 32H,  $CH_2-N$ ), 4.54 (sa, 4H, CH), 4.75 (s, 16H, O- $CH_2$ ), 5.85 (sa, 32H,  $NH_2$ ), 6.45-6.59 (m, 4H, Ar), 7.21 (sa, 4H, Ar), 8.55 (s, 24H, NH).

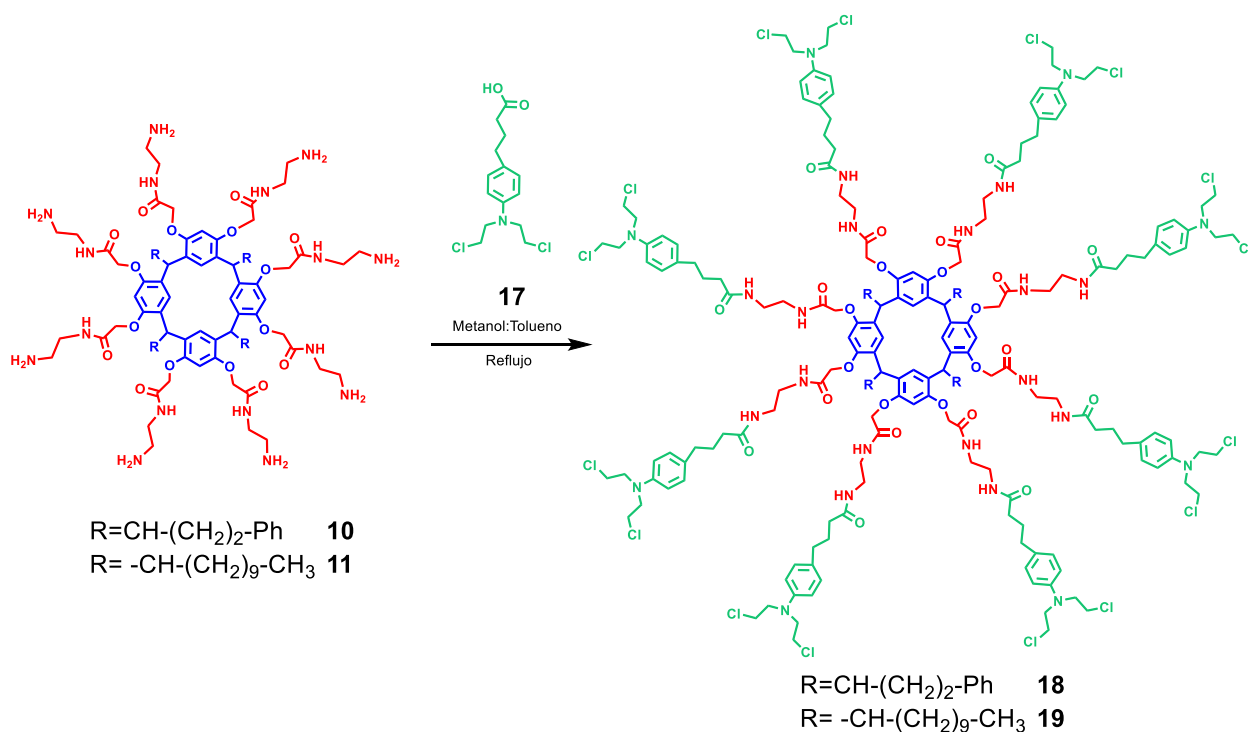
**$^{13}C$  NMR** ( $CDCl_3$ , 75 MHz)  $\delta$  (ppm): 14.1 ( $CH_3$ ), 22.6 ( $CH_2$ ), 26.5 ( $CH_2$ ), 29.3 ( $CH_2$ ), 29.7 ( $CH_2$ ), 30.8 ( $CH_2$ ), 31.9 ( $CH_2$ ), 34.9 ( $CH_2-C=O$ ), 37.2 (CH), 38.5 (NH- $CH_2$ ),

40.6 (NH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>), 49.8 (N-CH<sub>2</sub>), 55.0 (CH<sub>2</sub>-N), 67.3 (CH<sub>2</sub>-O), 125.7 (Ar), 126.5 (Ar), 126.5 (Ar<sub>ipso</sub>), 128.5 (Ar), 129.2 (Ar), 129.3 (Ar), 143.1 (Ar<sub>ipso</sub>), 157.8 (Ar-O), 170.2 (C=O) [1], 175.0 (C=O) [2].

**EM MALDI-TOF** (m/z): 3739.1

**Análisis Elemental calculado para:** C<sub>184</sub>H<sub>336</sub>N<sub>48</sub>O<sub>32</sub>: C: 59.20, H: 9.07, N: 18.01, O: 13.71 %.

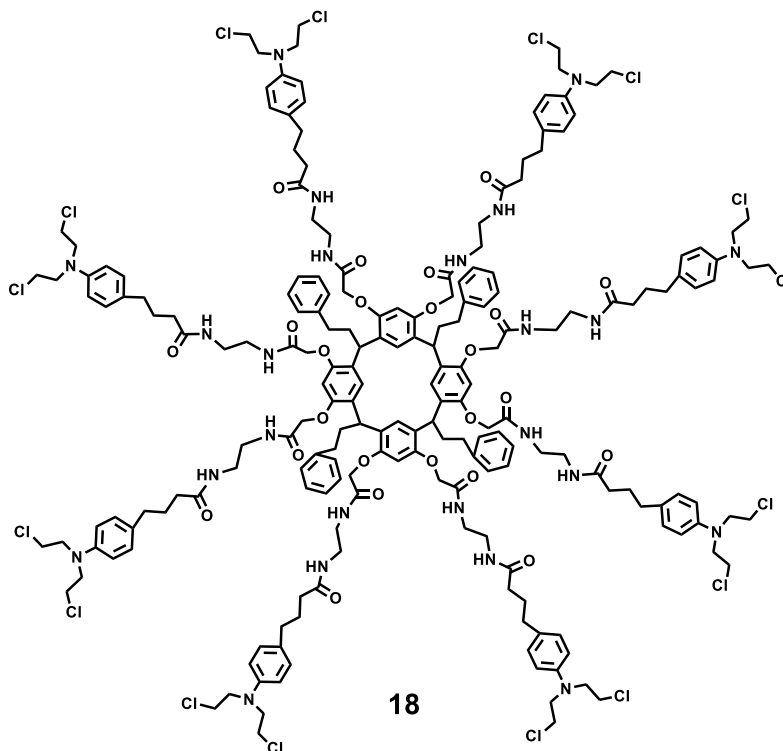
### 5.2.1. Síntesis de los resorcinaren-dendrimeros G 1.0 conjugados con clorambucilo



**Esquema 6.** Síntesis de los conjugados de los resorcinaren-dendrimeros **18** y **19** de generación 1.0 con clorambucilo.

Se disolvieron 0.571 g (0.335 mmol) de **10** o 1.059 g (0.556 mmol) de **11** en una mezcla de metanol y tolueno (5:1) manteniendo en agitación y calentando a aproximadamente a 80°C durante 15 minutos. Posteriormente se adicionaron 0.889 g (2.924 mmol) de clorambucilo **17**. La mezcla de reacción se mantuvo en agitación y a reflujo durante 7 días. La mezcla de reacción fue monitoreada por cromatografía en capa fina y cuando se observó la ausencia de uno de los reactantes se detuvo la reacción y se evaporó el disolvente, formándose un líquido viscoso, el cual se disuelve en diclorometano y precipita en hexano. A este precipitado se le realizaron varios lavados con hexano. Finalmente, el sólido obtenido se filtró al vacío, obteniéndose **18** y **19** respectivamente.





18

**Caracterización:**

**Rendimiento** 71.5%, 1.037 g (0.259 mmol)

**Aspecto sólido** color café.

**Punto de fusión** > 300 °C.

**IR** (KBr, cm<sup>-1</sup>): 3023, 2998, 2927, 1671, 1540, 1440, 824, 750, 701, 581.

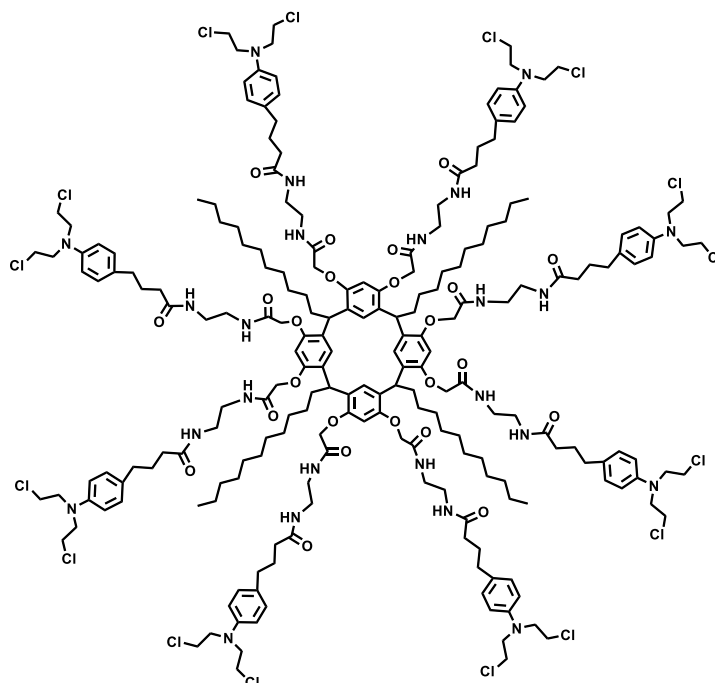
**UV-vis** (MeOH, nm): 283, 272, 207.

**<sup>1</sup>H NMR** (CDCl<sub>3</sub>, 400 MHz) δ (ppm): 2.18 (sa, 16H, CH<sub>2</sub>) [CLB], 2.32 (t, 16H, CH<sub>2</sub>-C=O, *J* = 8.0 Hz) [CLB], 2.55 (sa, 16H, CH<sub>2</sub>-Ar) [CLB], 2.63 (sa, 16H, CH<sub>2</sub>), 3.44 (s, 64H, {32H, CH<sub>2</sub>-N [CLB]; 16H, NH-CH<sub>2</sub>; 16H, CH<sub>2</sub>-NH}), 3.66 (s, 32H, CH<sub>2</sub>-Cl), 4.21 (sa, 4H, CH), 4.49 (sa, 16H, CH<sub>2</sub>-O), 5.31 (s, 16H, NH), 6.65 (s, 8H, Ar), 6.88 (d, 16H, Ar, *J* = 8.0 Hz) [CLB], 7.09 (d, 16H, Ar, *J* = 8.0 Hz) [CLB], 7.31 (s, 20H, Ar).

**<sup>13</sup>C NMR** (CDCl<sub>3</sub>, 75 MHz) δ (ppm): 31.1 (CH<sub>2</sub>), 37.5 (CH<sub>2</sub>-C=O), 38.1 (NH-CH<sub>2</sub>), 46.3 (N-CH<sub>2</sub>) [CLB], 53.7 (Cl-CH<sub>2</sub>), 62.9 (CH<sub>2</sub>-O), 99.3 (Ar), 106.4 (Ar), 107.4 (Ar), 124.1 (Ar), 126.5 (Ar), 128.3 (Ar<sub>ipso</sub>), 148.1 (Ar-N) [CLB], 154.1 (Ar-O), 163.6 (C=O) [1], 169.2 (C=O) [2].

**EM MALDI-TOF** (m/z): 3995.2

**Análisis Elemental calculado para:** C<sub>204</sub>H<sub>256</sub>Cl<sub>16</sub>N<sub>24</sub>O<sub>24</sub>: C: 61.24, H: 6.43; Cl: 14.24, N: 8.44, O: 9.64 %.



19

**Caracterización:**

**Rendimiento** 85.3%, 1.275 g (0.304 mmol).

**Aspecto** sólido color café claro.

**Punto de fusión** > 300 °C.

**IR** (KBr, cm<sup>-1</sup>): 3387, 2922, 2850, 1667, 1516, 1438, 1035, 823, 739, 660.

**UV-vis** (MeOH, nm): 209, 270, 284.

**<sup>1</sup>H NMR** (CDCl<sub>3</sub>, 400 MHz) δ (ppm): 0.85 (sa, 12H, CH<sub>3</sub>), 1.22 (s, 72H, CH<sub>2</sub>), 1.88 (s, 8H, CH<sub>2</sub>), 2.33 (sa, 16H, CH<sub>2</sub>-C=O) [CLB], 2.55 (s, 16H, CH<sub>2</sub>) [CLB], 2.57 (sa, 16H, CH<sub>2</sub>-Ar) [CLB], 3.62 (s, 16H, NH-CH<sub>2</sub>), 3.63 (s, 16H, CH<sub>2</sub>-NH), 3.68 (sa, 32H, CH<sub>2</sub>-Cl), 3.70 (s, 32H, CH<sub>2</sub>-N) [CLB], 4.22 (t, 16H, CH<sub>2</sub>-O, *J* = 8.0 Hz), 4.61 (sa, 4H, CH), 6.62-6.67 (m, 32H, Ar) [CLB], 7.04 (sa, 8H, Ar), 8.16 (s, 16H, NH).

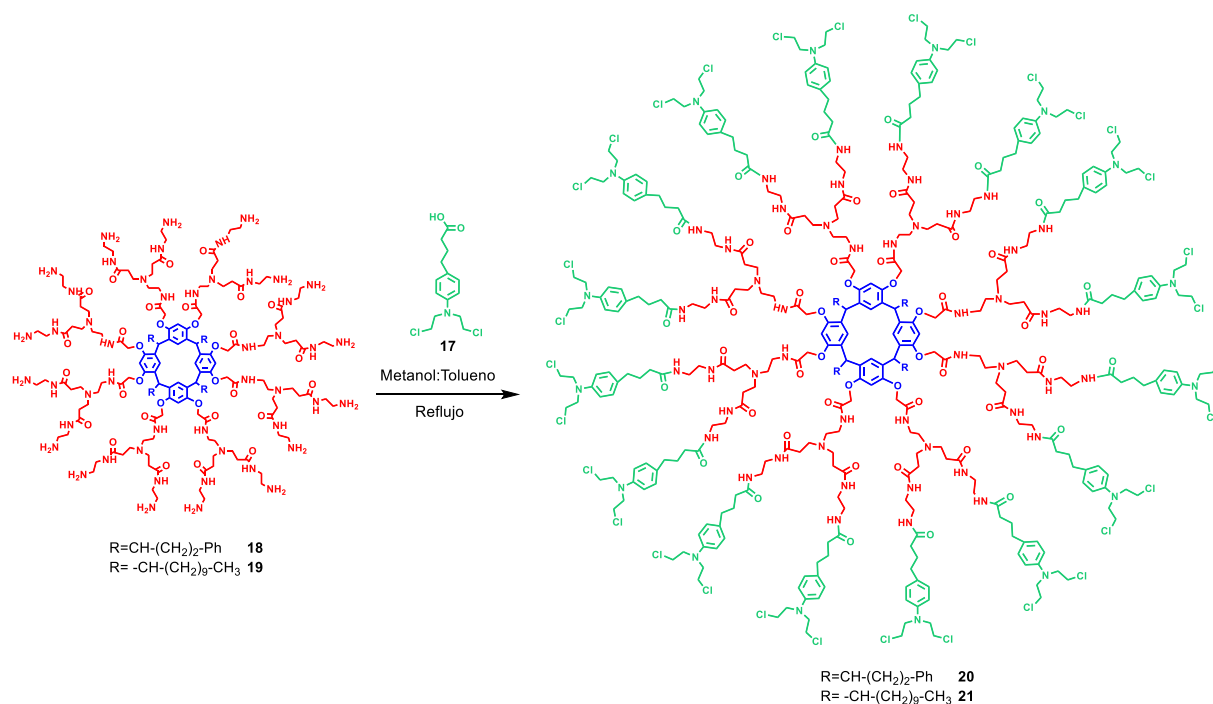
**<sup>13</sup>C NMR** (CDCl<sub>3</sub>, 75 MHz) δ (ppm): 14.1 (CH<sub>3</sub>), 22.7 (CH<sub>2</sub>), 26.6 (CH<sub>2</sub>), 29.3 (CH<sub>2</sub>), 29.8 (CH<sub>2</sub>), 31.9 (CH<sub>2</sub>) [CLB], 33.2 (CH<sub>2</sub>), 33.9 (CH<sub>2</sub>) [CLB], 40.5 (NH-CH<sub>2</sub>), 49.7 (N-

CH<sub>2</sub>) [CLB], 53.6 (CH<sub>2</sub>-Cl), 112.2 (Ar) [CLB], 129.5 (Ar) [CLB], 129.5 (Ar<sub>ipso</sub>), 129.7 (Ar), 130.6 (Ar), 136.2 (Ar), 144.3 (Ar-N) [CLB], 150.4 (Ar-O), 165.6 (C=O) [1], 173.3 (C=O) [2].

**EM MALDI-TOF** (m/z): 4193.8

**Análisis Elemental calculado para:** C<sub>216</sub>H<sub>312</sub>Cl<sub>16</sub>N<sub>24</sub>O<sub>24</sub>: C: 61.83, H: 7.49, Cl: 13.52, N: 8.01, O: 9.15 %.

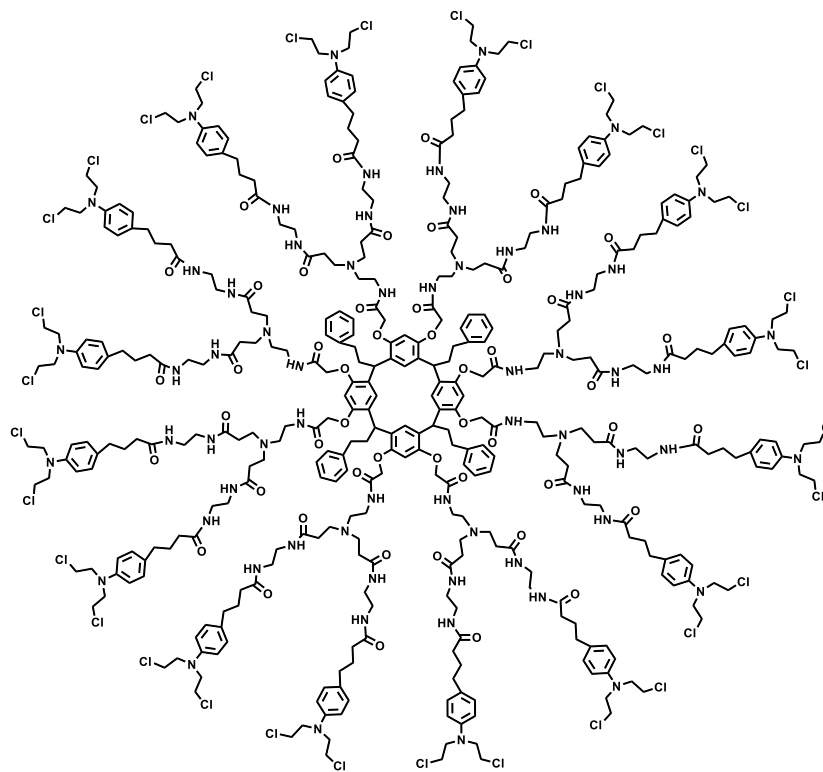
### 5.2.2. Síntesis de los resorcinaren-dendrimeros de G 2.0 conjugado con clorambucilo



**Esquema 7.** Síntesis de los conjugados de los resorcinaren-dendrimeros **20** y **21** de generación 2.0 con clorambucilo.

Se disolvieron 0.562 g (0.159 mmol) de **15** o 0.525 g (0.141 mmol) de **16** en una mezcla metanol y tolueno (5:1) manteniendo en agitación y calentando aproximadamente a 80°C durante 15 minutos, posteriormente se adicionaron 0.827 g (2.720 mmol) de clorambucilo **17**. La mezcla de reacción se mantuvo en agitación y a reflujo durante 10 días. La mezcla de reacción fue monitoreada por

cromatografía en capa fina y cuando se observó la ausencia de uno de los reactantes se detuvo la reacción y se evaporó el disolvente, formándose un líquido viscoso, el cual se disuelve en diclorometano y precipita en hexano. A este precipitado se le realizaron varios lavados con hexano. Finalmente, el sólido obtenido se filtró al vacío, obteniéndose los compuestos **20** o **21** respectivamente.



20

**Caracterización:**

**Rendimiento** 52.5%, 0.725 g (0.089 mmol).

**Aspecto** sólido color beige.

**Punto de fusión** > 300 °C.

**IR** (KBr,  $\text{cm}^{-1}$ ): 3036, 2932, 2859, 1669, 1542, 1442, 823, 751, 701, 588.

**UV-vis** (MeOH, nm): 283, 271, 205.

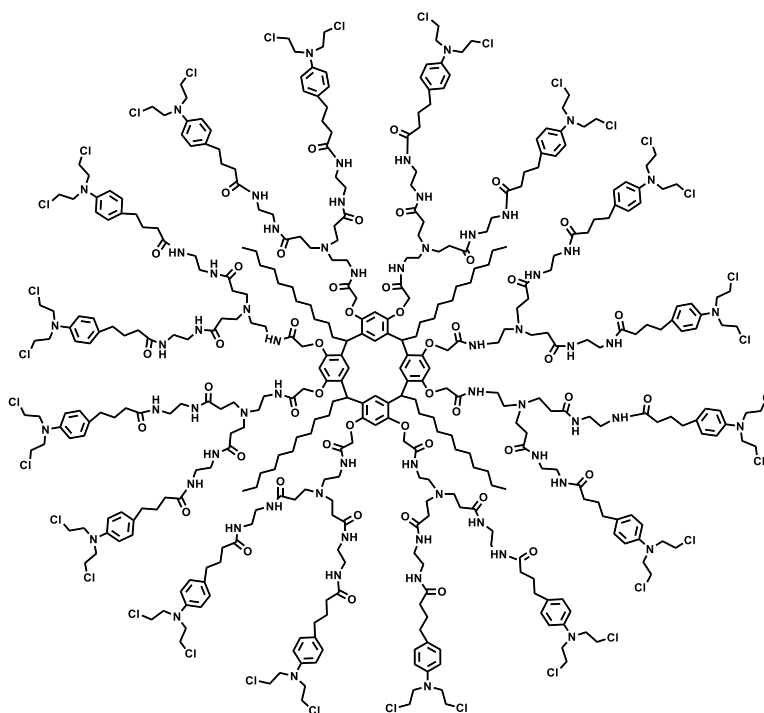
**$^1\text{H NMR}$**  ( $(\text{CD}_3)_2\text{SO}$ , 400 MHz)  $\delta$  (ppm): 1.71 (sa, 32H,  $\text{CH}_2$ ) [CLB], 2.20 (sa, 32H,  $\text{CH}_2$ - $(\text{C}=\text{O})\text{NH}$ ) [CLB], 2.44 (sa, 16H,  $\text{CH}_2$ ), 2.66 (sa, 32H,  $\text{CH}_2$ -Ar) [CLB], 2.88 (sa, 32H,  $\text{CH}_2$ - $(\text{C}=\text{O})\text{NH}$ ), 3.40 (sa, 224H, {16H, N- $\text{CH}_2$ ; 64H  $\text{CH}_2$ -Cl [CLB]; 64H,  $\text{CH}_2$ -N [CLB];

64H CH<sub>2</sub>-NH; 16H, NH-CH<sub>2</sub>}), 3.60 (sa, 32H, CH<sub>2</sub>-N), 4.13 (sa, 4H, CH), 4.44 (sa, 16H, CH<sub>2</sub>-O), 6.66 (sa, 4H, Ar), 7.09 (sa, 64H, Ar) [CLB], 8.20 (sa, 20H, Ar), 8.53 (sa, 4H, Ar).

**<sup>13</sup>C NMR** ((CD<sub>3</sub>)<sub>2</sub>SO, 75 MHz) δ (ppm): 27.1 (CH<sub>2</sub>) [CLB], 29.4 (CH<sub>2</sub>), 31.1 (CH<sub>2</sub>), 33.5 (CH<sub>2</sub>), 33.8 (CH<sub>2</sub>-(C=O)-NH), 36.1 (HN-(C=O)-CH<sub>2</sub>) [CLB], 38.7 (HN-CH<sub>2</sub>), 41.42 (CH<sub>2</sub>-NH), 52.1 (CH<sub>2</sub>-N), 52.7 (CH<sub>2</sub>-Cl) [CLB], 58.6 (N-CH<sub>2</sub>) [CLB], 68.0 (CH<sub>2</sub>-O), 112.4 (Ar) [CLB], 121.3 (Ar), 125.9 (Ar), 128.6 (Ar), 129.6 (Ar), 130.6 (Ar) [CLB], 135.5 (Ar) [CLB], 142.2 (Ar-N) [CLB], 148.1 (Ar), 154.1 (Ar-O), 168.1 (C=O) [1], 170.3 (C=O) [2], 174.8 (C=O) [CLB].

**EM MALDI-TOF** (m/z): 8112.6

**Análisis Elemental calculado para:** C<sub>396</sub>H<sub>552</sub>Cl<sub>32</sub>N<sub>64</sub>O<sub>48</sub>: C: 58.67, H: 6.90, Cl: 13.96, N: 11.03, O: 9.45 %.



21

**Caracterización:**

**Rendimiento** 32.6%, 0.460 g (0.055 mmol).

**Aspecto** sólido color marrón dorado.

**Punto de fusión** > 300 °C.

**IR** (KBr, cm<sup>-1</sup>): 3062, 2925, 2854, 1670, 1407, 822, 719, 702, 582.

**UV-vis** (MeOH, nm): 282, 259, 207.

**<sup>1</sup>H NMR** ((CD<sub>3</sub>)<sub>2</sub>SO, 400 MHz) δ (ppm): 0.79 (sa, 12H, CH<sub>3</sub>), 1.15 (sa, 80H, CH<sub>2</sub>), 1.72 (sa, 32H, CH<sub>2</sub>) [CLB], 2.69 (sa, 32H, CH<sub>2</sub>-(C=O)NH) [CLB], 2.86 (sa, 32H, CH<sub>2</sub>-(C=O)NH), 3.07 (sa, 32H CH<sub>2</sub>-Ar [CLB]), 3.34 (sa, 224H, {16H, N-CH<sub>2</sub>; 64H CH<sub>2</sub>-Cl [CLB]; 64H, CH<sub>2</sub>-N [CLB]; 64H CH<sub>2</sub>-NH; 16H, CH<sub>2</sub>-NH}), 3.58 (sa, 32H, CH<sub>2</sub>-N), 4.44 (sa, 4H, CH), 4.59 (sa, 16H, CH<sub>2</sub>-O), 6.49 (sa, 4H, Ar), 6.82 (sa, 4H, Ar) [CLB], 7.09 (sa, 14H, Ar) [CLB], 7.96-8.49 (m, 46H, Ar) [CLB], 9.18 (sa, 4H, Ar).

**<sup>13</sup>C NMR** ((CD<sub>3</sub>)<sub>2</sub>SO, 75 MHz) δ (ppm): 14.3 (CH<sub>3</sub>), 22.6 (CH<sub>2</sub>), 28.3 (CH<sub>2</sub>), 29.2 (CH<sub>2</sub>), 30.0 (CH<sub>2</sub>), 31.8 (CH<sub>2</sub>) [CLB], 33.9 (CH<sub>2</sub>-(C=O)-NH), 35.6 (CH<sub>2</sub>) [CLB], 37.0 (CH), 46.9 (NH-CH<sub>2</sub>), 48.6 (N-CH<sub>2</sub>), 49.5 (CH<sub>2</sub>-N) [CLB], 52.1 (N-CH<sub>2</sub>), 52.4 (CH<sub>2</sub>-Cl), 68.1 (CH<sub>2</sub>-O), 112.1 (Ar) [CLB], 126.2 (Ar), 127.8 (Ar) [CLB], 128.5 (Ar), 136.7 (Ar-CH<sub>2</sub>) [CLB], 143.1 (Ar-N) [CLB], 153.9 (Ar-O), 168.2 (C=O) [1], 169.2 (C=O) [CLB], 173.8 (C=O) [2].

**EM MALDI-TOF** (m/z): 8306.2

**Análisis Elemental calculado para:** C<sub>408</sub>H<sub>608</sub>Cl<sub>32</sub>N<sub>64</sub>O<sub>48</sub>: C: 58.99, H: 7.41, Cl: 13.62, N: 10.76, O: 9.22 %.

# Capítulo 6



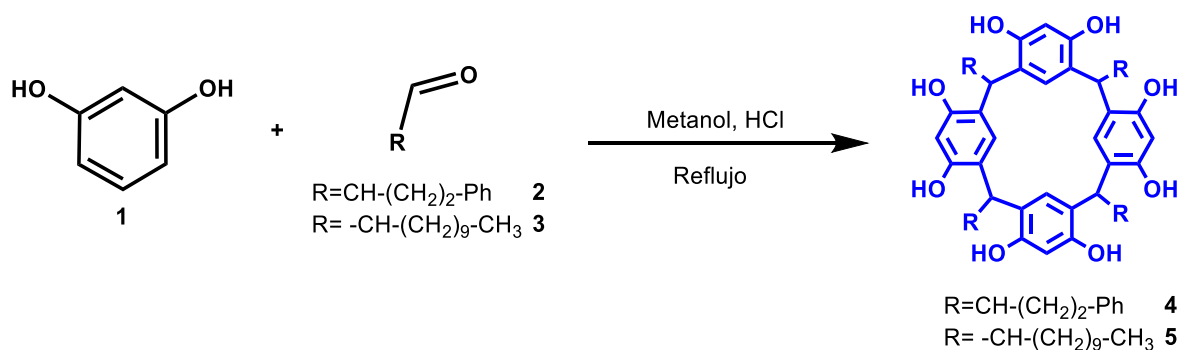
Discusión de  
resultados

## 6. Discusión de resultados

### 6.1.1. Resorcinarenos

Una de las desventajas que presenta la síntesis por el método divergente es que conforme crecen el número de generaciones, se presenta el impedimento estérico. Se buscó un núcleo que permita el crecimiento de los brazos dendriméricos, evitando efectos de impedimento estérico. Por esta razón se utilizaron los resorcinarenos, las cuales son macromoléculas que poseen ocho grupos hidróxilos fenólicos los cuales serán los sitios reactivos para llevar a cabo las ramificaciones de los dendrímeros.

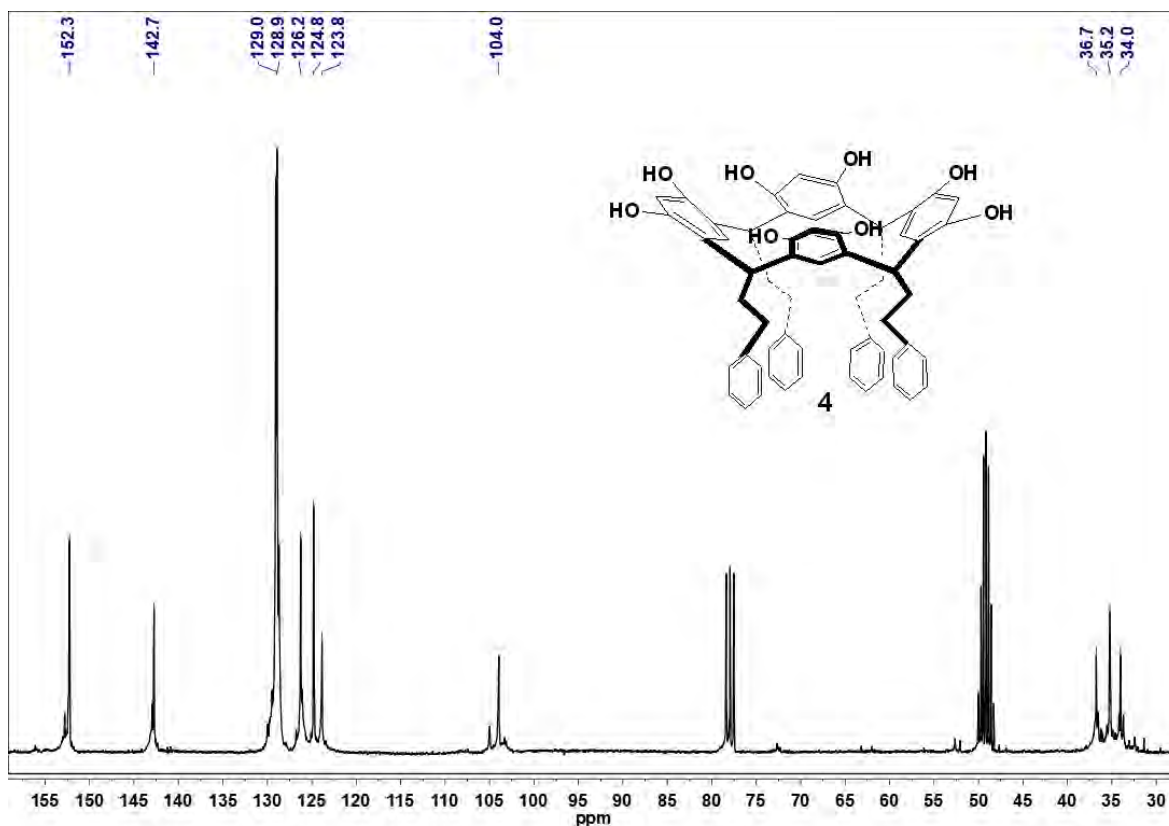
El presente trabajo de investigación se inició con la síntesis de los resorcinarenos, los cuales serán los núcleos de los dendrímeros, para lo cual se partió del resorcinol **1** y dos diferentes aldehídos el hidrocinaldehído (3-fenilpropanal) **2** o el dodecanaldehído **3** empleando HCl como catalizador. La reacción se mantuvo a reflujo durante 24 horas de acuerdo con el esquema 1 de síntesis, obteniéndose **4** y **5**. El compuesto **4** se obtuvo con un rendimiento del 90% siendo un sólido color beige, y el compuesto **5** es un sólido color terracota, el cual se obtuvo con un rendimiento del 80%.



Esquema 1. Síntesis de los resorcinarenos **4** y **5**.

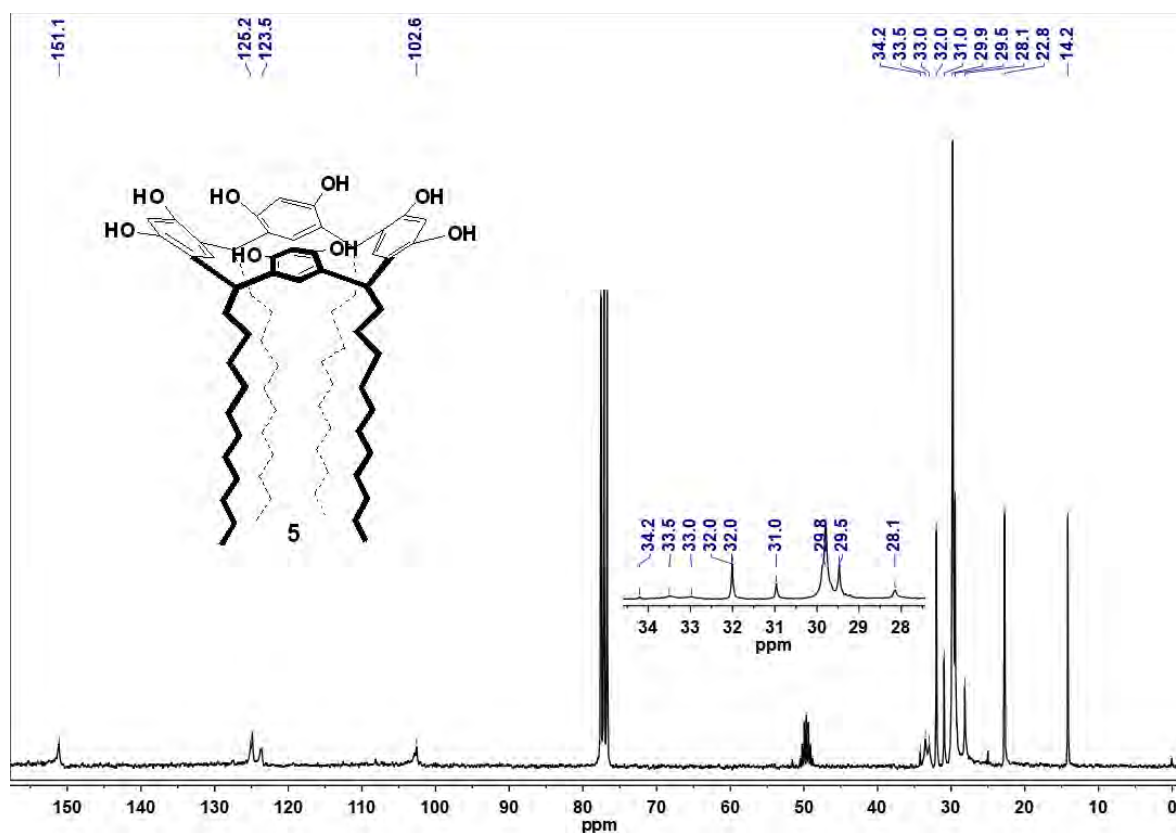


El compuesto **4**, fue caracterizado inicialmente por resonancia magnética nuclear de  $^{13}\text{C}$ , el cual se muestra en la figura 1, en donde se observa a  $\delta_{\text{C}}$  34.0 y  $\delta_{\text{C}}$  35.2 las señales correspondientes a los carbonos de los metilenos de la parte inferior del macrociclo, y a  $\delta_{\text{C}}$  36.7 se observa la señal correspondiente los carbonos de los metinos puentes del resorcinareno. A  $\delta_{\text{C}}$  104.0 se observa una señal correspondiente a los carbonos que se encuentran entre los dos grupos hidroxilo, a  $\delta_{\text{C}}$  124.8 una señal correspondiente a los carbonos *ipso* del resorcinol, mientras que a  $\delta_{\text{C}}$  126.2 una señal correspondiente a los carbonos en posición *para* de los fenilos de la parte inferior del resorcinareno. A  $\delta_{\text{C}}$  128.9 y 129.0 se observan dos señales correspondientes a los carbonos de la parte inferior del macrociclo. A  $\delta_{\text{C}}$  142.7 se observa una señal correspondiente a los carbonos *ipso* de los fenilos de la parte inferior. Finalmente, a  $\delta_{\text{C}}$  152.3 se observa la señal correspondiente a los carbonos unidos al grupo hidroxilo (Ar-O).



**Figura 1.** RMN- $^{13}\text{C}$  del compuesto **4** (75 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ).

Por otra parte, el compuesto **5** fue caracterizado por resonancia magnética nuclear de  $^{13}\text{C}$ . En el espectro de RMN- $^{13}\text{C}$  (figura 2) se puede observar, a  $\delta_{\text{C}}$  14.2 una señal correspondiente a los carbonos de los metilos terminales de las cadenas alifáticas; mientras que de  $\delta_{\text{C}}$  22.8 a 33.5 se observan las señales correspondientes a los carbonos de los metilenos de las cadenas alifáticas, a  $\delta_{\text{C}}$  34.2 se observa la señal de los carbonos de los metinos puentes. De  $\delta_{\text{C}}$  102.6 a 125.2 se observan las señales correspondientes a los carbonos de los anillos aromáticos, a  $\delta_{\text{C}}$  102.6 se observa una señal correspondiente a los carbonos que se encuentran entre los dos grupos hidroxilo; por otra parte, a  $\delta_{\text{C}}$  123.5 se observa una señal correspondiente a los carbonos *ipso*, mientras que a  $\delta_{\text{C}}$  125.2 se observa una señal correspondiente a los carbonos del resorcinareno. Finalmente, a  $\delta_{\text{C}}$  151.1 se observa una señal correspondiente al carbono unido al grupo hidroxilo (Ar-O).

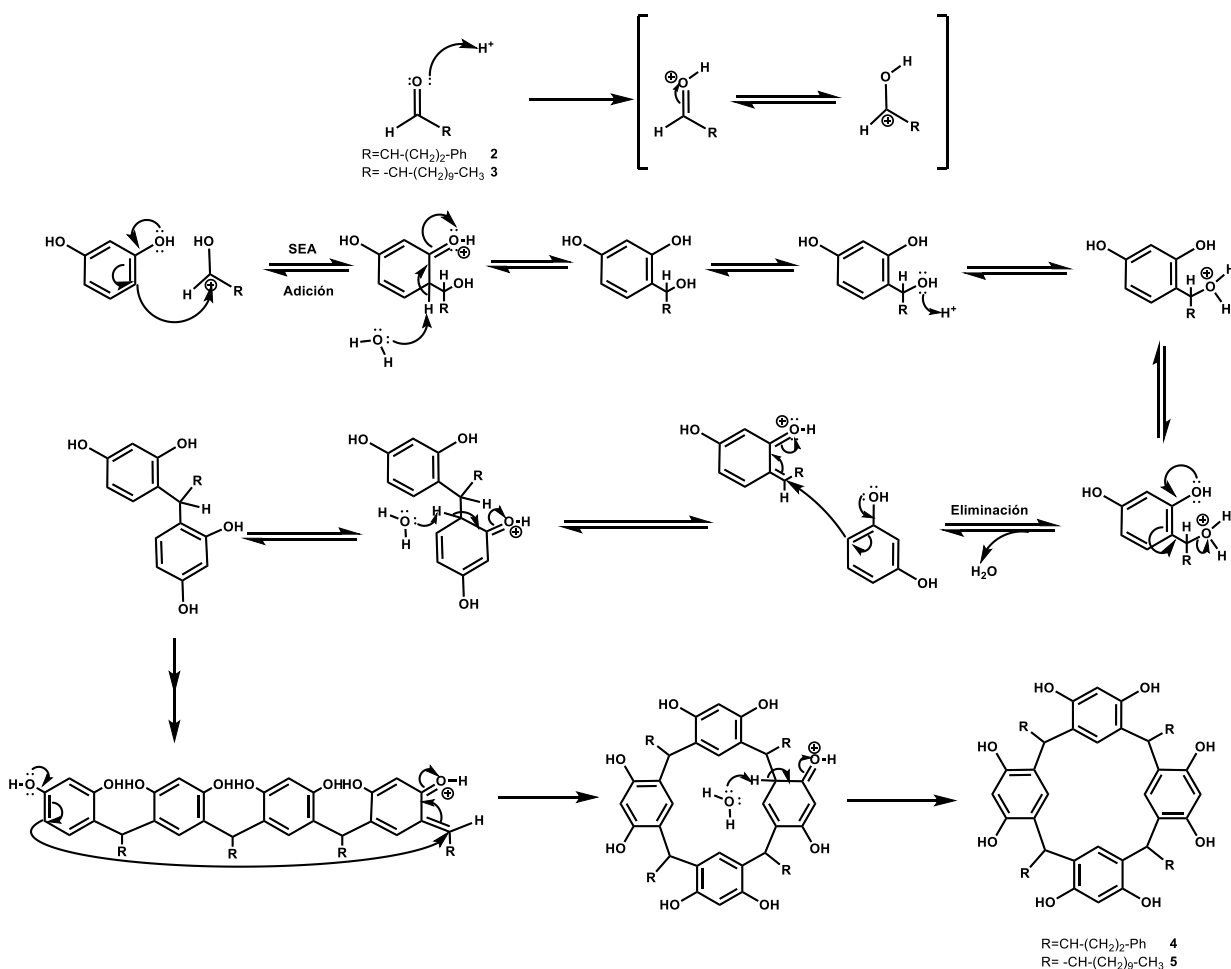


**Figura 2.** RMN- $^{13}\text{C}$  del compuesto **5** (75 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ).

A continuación, se presenta el mecanismo de reacción para la obtención de los resorcinarenos.

### Mecanismo de reacción

Debido a la catálisis ácida, el mecanismo de reacción comienza protonando al aldehído, esto se realiza con el fin de aumentar la electrofilia del aldehído (hidrocinamaldehído o dodecanaldehído). Se lleva a cabo una sustitución electrofílica aromática entre el resorcinol y el aldehído protonado en cuestión. El resorcinol realiza una sustitución electrofílica sobre el carbono electrofílico; se llevan a cabo equilibrios ácido-base, en los cuales se eliminan moléculas de agua. La repetición de estas reacciones genera un tetrámero. En el último paso, una molécula de agua abstrae un hidrógeno del tetrámero y se regenera el doble enlace del anillo aromático, obteniéndose así una molécula de resorcinareno.



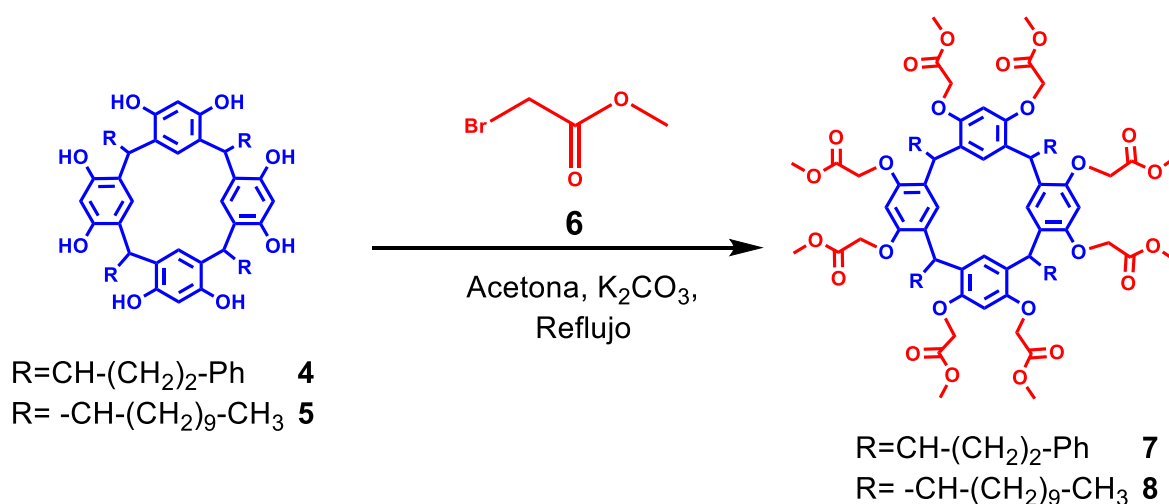
**Esquema 2.** Mecanismo de reacción para la formación de los resorcinarenos.

Los productos con la conformación corona son los más deseables y más estables termodinámicamente hablando. Como bien se mencionó anteriormente, los resorcinarenos puede optar por distintas conformaciones, las cuales dependen del tipo de disolvente, así como del aldehído utilizado. Con base en los resultados obtenidos por RMN de  $^1\text{H}$ ,  $^{13}\text{C}$  y debido a que se utilizaron aldehídos de cadenas largas, se puede concluir que se obtuvieron los resorcinarenos de conformación corona (ccc).

Una vez sintetizados y caracterizados los resorcinarenos (**4** y **5**) se procedió a sintetizar los resorcinaren-dendrímeros generación 0.5.

### 6.1.2. Resorcinaren-dendrimeros G 0.5

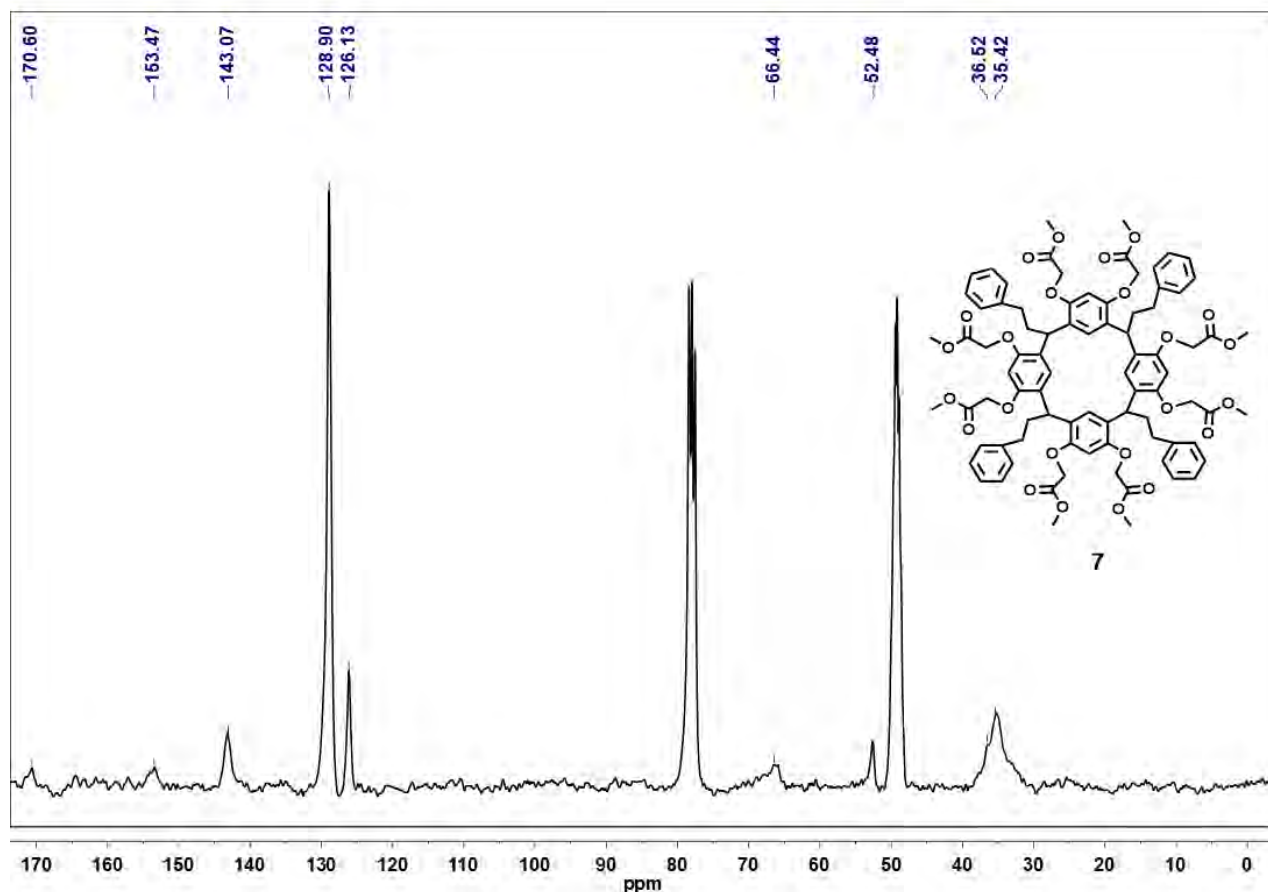
La síntesis de los resorcinaren-dendrimeros G 0.5 se realizó por medio de una síntesis de Williamson, al disolver los compuestos **4** o **5** en acetona anhidra, posteriormente se adiciona carbonato de potasio, se mantiene a temperatura ambiente la mezcla de reacción durante 48 horas, para así obtener **7** u **8** respectivamente. Obteniéndose el compuesto **7**, un sólido de color terracota con un rendimiento del 52%; mientras que el compuesto **8** es un sólido color blanco con un rendimiento del 48%.



**Esquema 3.** Síntesis de los resorcinaren-dendrimeros **7** y **8** de generación 0.5.

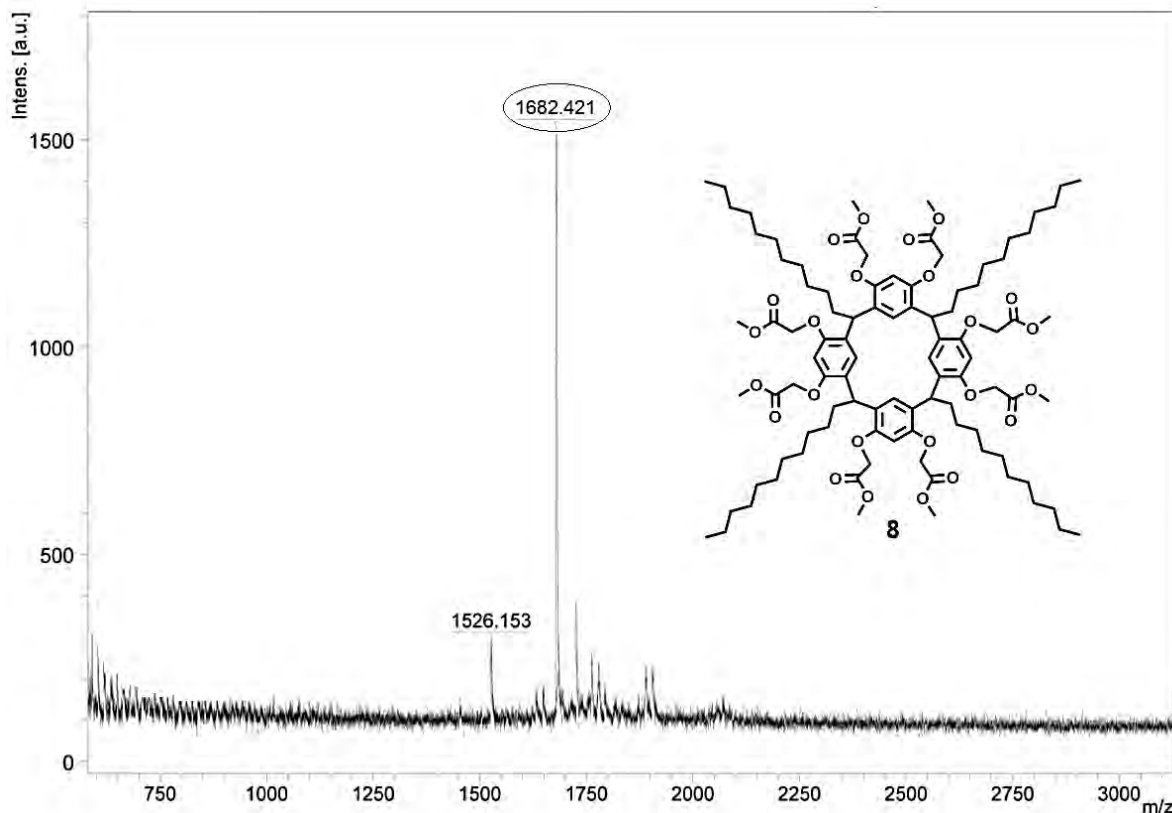
El compuesto **7**, fue caracterizado por resonancia magnética nuclear de  $^{13}\text{C}$ , el cual se muestra en la figura 3, en donde se observa a  $\delta_c$  35.4 la señal correspondiente a los carbonos de los metilenos de la parte inferior del macrociclo, a  $\delta_c$  36.5 se observa la señal correspondiente a los carbonos de los metinos puentes del resorcinareno, a  $\delta_c$  52.6 una señal correspondiente a los carbonos del metilos unidos a los oxígenos ( $\text{O}-\underline{\text{C}}\text{H}_3$ ), mientras que a  $\delta_c$  66.4 la señal de los carbonos de los metilenos unidos a oxígeno ( $\text{O}-\underline{\text{C}}\text{H}_2$ ). A  $\delta_c$  126.1 se observa una señal correspondiente a los carbonos en posición *para* de los fenilos de la parte inferior del resorcinareno. A  $\delta_c$  128.9 se observa una señal correspondiente a los carbonos de la parte inferior del macrociclo. A  $\delta_c$  142.7 se observa una señal correspondiente a los carbonos *ipso* de los fenilos de la parte inferior. Mientras que a  $\delta_c$  153.5 se

observa la señal correspondiente a los carbonos unidos al grupo hidroxilo (Ar-O), finalmente a  $\delta_C$  170.6 la señal correspondiente a los carbonos de los grupos carbonilos.



**Figura 3.** RMN- $^{13}\text{C}$  del compuesto 7 (75 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ).

El compuesto 8 fue caracterizado mediante espectrometría de masas MALDI-TOF, esta técnica permite el análisis de moléculas orgánicas grandes, tales como polímeros, *dendrimeros* y otras macromoléculas. En la figura 4, se observa un pico correspondiente al ión molecular 1682.4 m/z, correspondiente a M+2 del compuesto 8.



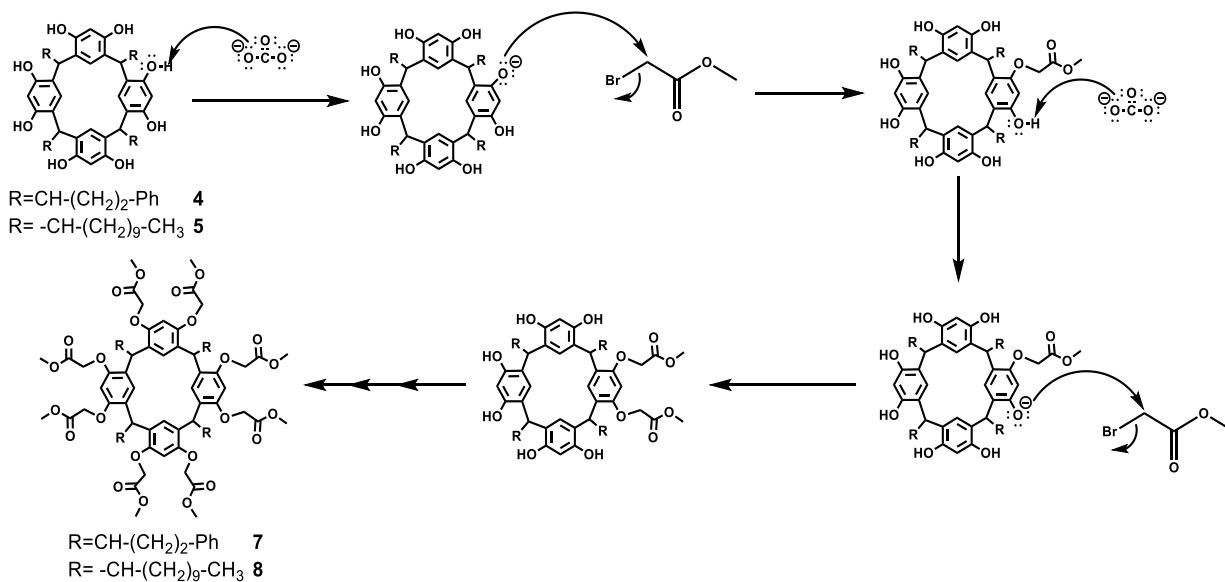
**Figura 4.** Espectrometría de masa por el método de (MALDI-TOF) del compuesto **8**.

A continuación, se presenta el mecanismo de reacción para la obtención de los resorcinaren-dendrímeros de generación 0.5.

#### ***Mecanismo de reacción***

El mecanismo de reacción se presenta en el esquema 4, se lleva a cabo mediante una síntesis de Williamson, la cual se lleva a cabo por una  $S_N2$  (sustitución nucleofílica bimolecular). Inicialmente se necesita una base, carbonato de potasio ( $K_2CO_3$ ) para abstraer los protones de los grupos  $-OH$  presentes en la periferia de los resorcinarenos y así formar los iones fenóxidos para que se lleve a cabo una reacción de sustitución nucleofílica al bromoacetato de metilo, provocando la eliminación del ion bromuro. Los pasos mencionados anteriormente se repiten hasta que todos y cada uno de los grupos  $-OH$  del resorcinareno reaccionen y así obtener los resorcinaren-dendrímeros G 0.5 (**7** y **8**) y bromuro de potasio (KBr), como

subproducto. En este paso se activa la molécula, permitiendo que en la siguiente etapa se pueda realizar una síntesis de acoplamiento, y así permitir el crecimiento de los brazos dendriméricos en cuestión.



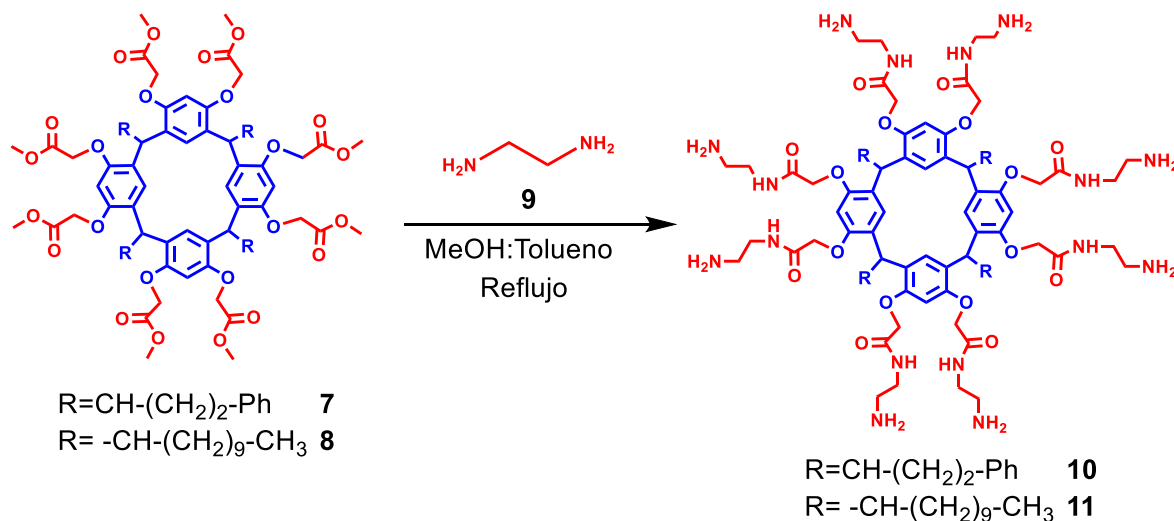
**Esquema 4.** Mecanismo de reacción para la obtención de los resorcinaren-dendrimeros G 0.5.

Con base en los resultados de espectrometría de masas y resonancia magnética nuclear de  $^{13}\text{C}$ , se concluye que se obtuvieron los resorcinaren-dendrimeros G 0.5 (**7** y **8**). Por lo tanto, una vez sintetizados y caracterizados los compuestos **7** y **8** se procedió a sintetizar los resorcinaren-dendrimeros de primera generación.



### 6.1.3. Resorcinaren-dendrimeros tipo PAMAM G 1.0

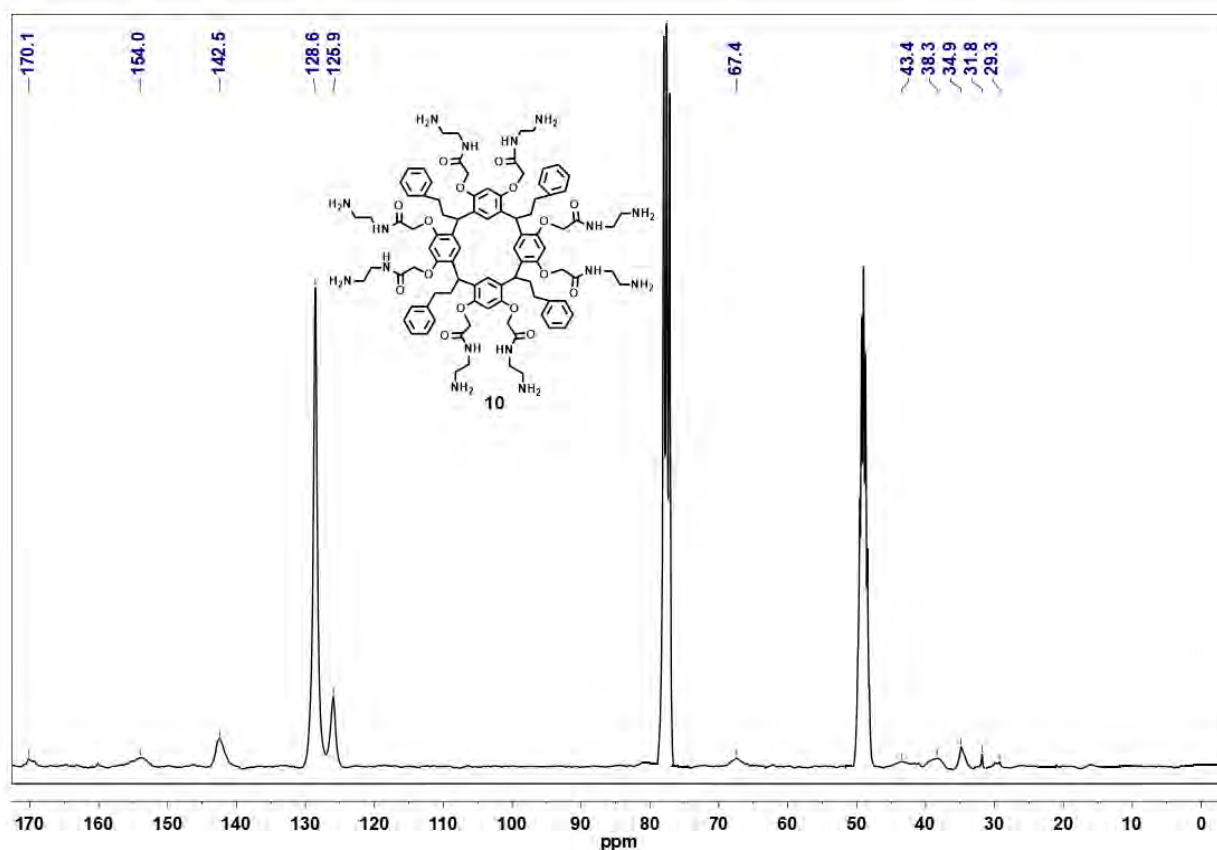
De acuerdo con el esquema 5, se hizo reaccionar los compuestos **7** y **8** con etilendiamina **9** en una mezcla metanol y tolueno a reflujo, para así obtener los compuestos **10** y **11**. El compuesto **10** es un sólido café, se obtuvo con un rendimiento del 92%; por otra parte, el compuesto **11** es un sólido café se obtuvo con un rendimiento del 93%.



**Esquema 5.** Síntesis de los resorcinaren-dendrimeros **10** y **11** de generación 1.0.

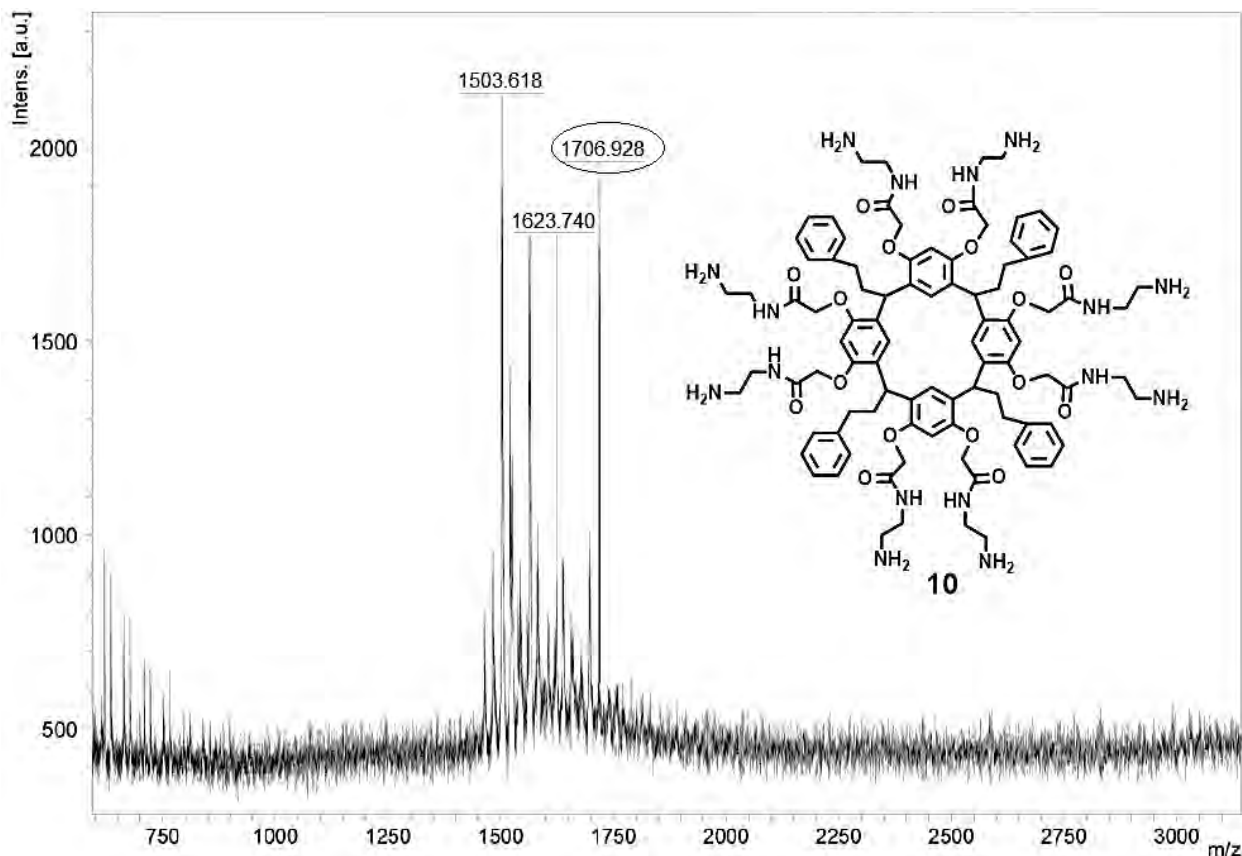
Inicialmente el compuesto **10** fue caracterizado por resonancia magnética nuclear de  $^{13}\text{C}$ . En el espectro de RMN- $^{13}\text{C}$  (figura 10) se puede observar, a  $\delta_{\text{C}}$  29.3 y a  $\delta_{\text{C}}$  31.8 las señales correspondientes a los carbonos de los metilenos de la parte inferior del macrociclo, y a  $\delta_{\text{C}}$  34.9 se observa la señal correspondiente los carbonos de los metinos puentes del resorcinareno. Por otra parte, a  $\delta_{\text{C}}$  38.3 se observa una señal correspondiente a los carbonos de los metilenos unidos a las aminas terminales de los resorcinaren-dendrimeros ( $\text{NH}_2-\text{CH}_2$ ), mientras que a  $\delta_{\text{C}}$  43.4 una señal indicando la presencia de metilenos unidos a los grupos NH; a  $\delta_{\text{C}}$  67.4 una señal indicando la presencia de metilenos unidos a oxígeno.

A  $\delta_c$  125.9 una señal correspondiente a los carbonos *ipso* del resorcinol, mientras que a  $\delta_c$  128.6 una señal correspondiente a los carbonos en posición *para* de los fenilos de la parte inferior del resorcinareno. A  $\delta_c$  142.5 se observa una señal correspondiente a los carbonos *ipso* de los fenilos de la parte inferior. A  $\delta_c$  154.3 se observa la señal correspondiente a los carbonos unidos al grupo hidroxilo (Ar-O). Finalmente, a  $\delta_c$  170.1 se observa la señal correspondiente al carbono del grupo carbonilo (C=O).



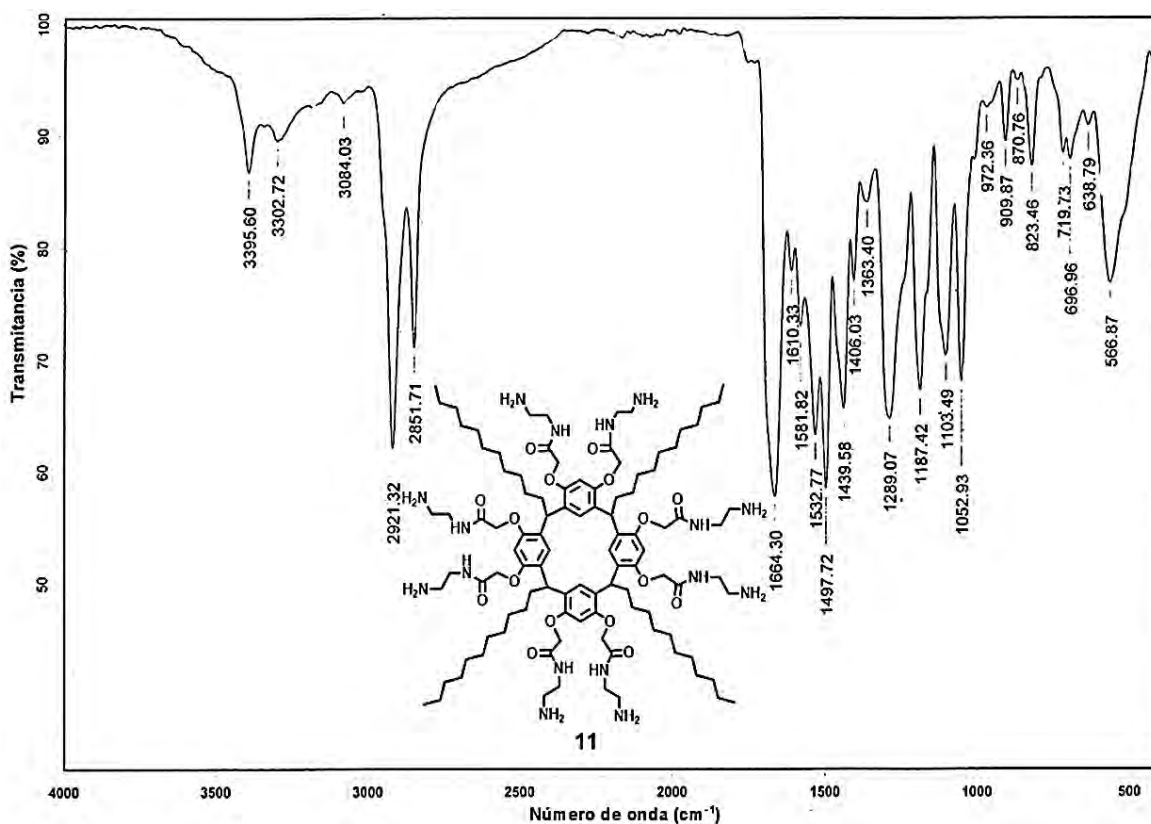
**Figura 5.** RMN- $^{13}\text{C}$  del compuesto **10** (75 MHz, CDCl<sub>3</sub>).

Para confirmar la obtención del compuesto **10**. El compuesto **10**, se caracterizó mediante espectrometría de masas MALDI-TOF. En la figura 6, se observa un pico a 1706.928 m/z, correspondiente a la masa del compuesto **10**.



**Figura 6.** Espectrometría de masas (MALDI-TOF) del compuesto **10**.

Por otra parte, para el caso del compuesto **11**, en el espectro de FTIR (figura 7), se observa a  $1664\text{ cm}^{-1}$  la banda correspondiente a las vibraciones del grupo carbonilo (C=O), a  $3302$  y  $3395\text{ cm}^{-1}$  se observan dos bandas características de las vibraciones N-H. A  $3084\text{ cm}^{-1}$  se observa una banda característica a las vibraciones C-H de los anillos aromáticos. Por otra parte, a  $1523\text{ cm}^{-1}$  y  $1497\text{ cm}^{-1}$ , se observan las bandas correspondientes a los C-C de los anillos aromáticos. Además, a  $2921$  y  $2851\text{ cm}^{-1}$  se observan las bandas que indican la presencia de metilos y metilenos, mientras que a  $719\text{ cm}^{-1}$  se observa la banda correspondiente a la vibración (rocking) de los metilenos de una cadena alifática larga.



**Figura 7.** FTIR del compuesto **11**.

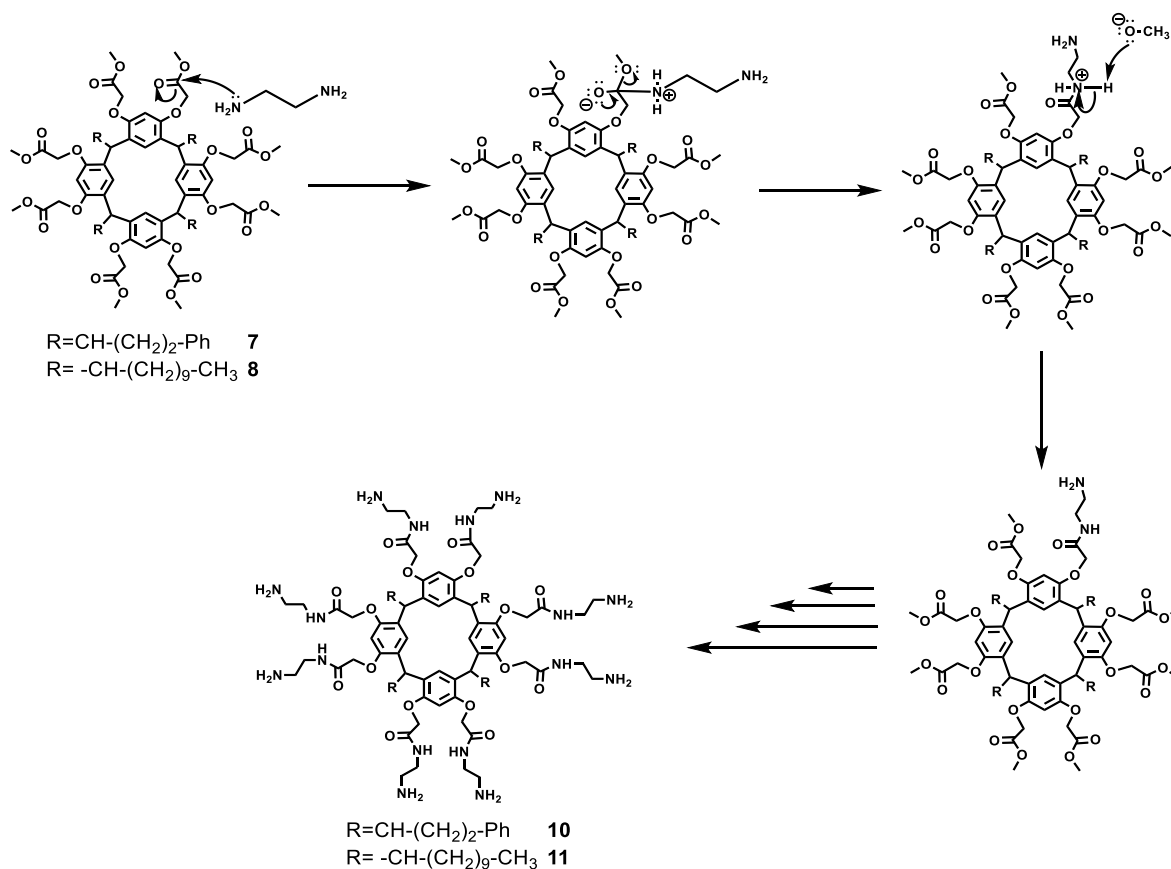
Las señales observadas en el de RMN-<sup>13</sup>C del compuesto **10**, y la presencia en el FTIR del compuesto **11** de las bandas características de las vibraciones N-H, y a la banda ancha e intensa que se observa a entre 1665 a 1650 cm<sup>-1</sup>, indican la formación de una amida, por lo tanto, se concluye que la reacción de aminólisis se llevó a cabo exitosamente.

A continuación, se presenta el mecanismo de reacción para la obtención de los resorcinaren-dendrimeros de primera generación.

### ***Mecanismo de reacción***

Partiendo los compuestos activados, es decir, de los dendrimeros de G 0.5 se procede a realizar la reacción de acoplamiento para así obtener los resorcinaren-dendrimeros de primera generación (**10** y **11**). Los compuestos **7** y **8**, son sometidos a una reacción de aminólisis, adicionando etilendiamina y manteniendo la mezcla de reacción a reflujo durante 24 horas.

La reacción de aminólisis consiste en tratar a un éster, en este caso a los resorcinaren-dendrimeros de G 0.5 con etilendiamina, para generar amidas. Tal como se muestra en el esquema 6, el mecanismo de reacción consiste en el ataque nucleofílico del nitrógeno de la etilendiamina sobre el grupo carbonilo del resorcinaren-dendrimeros de G 0.5 (sustitución nucleofílica al acilo), generando un intermediario tetraédrico, es entonces como el nitrógeno queda cargado positivamente y el oxígeno queda cargado negativamente, este último mete su par de electrones para así eliminar al grupo metóxido (-OCH<sub>3</sub>). Debido a que el grupo metóxido queda libre, abstrae el hidrógeno unido al nitrógeno que había quedado cargado positivamente, formándose así la amida correspondiente. Los pasos mencionados anteriormente ocurren en todos y cada uno de los brazos dendriméricos.



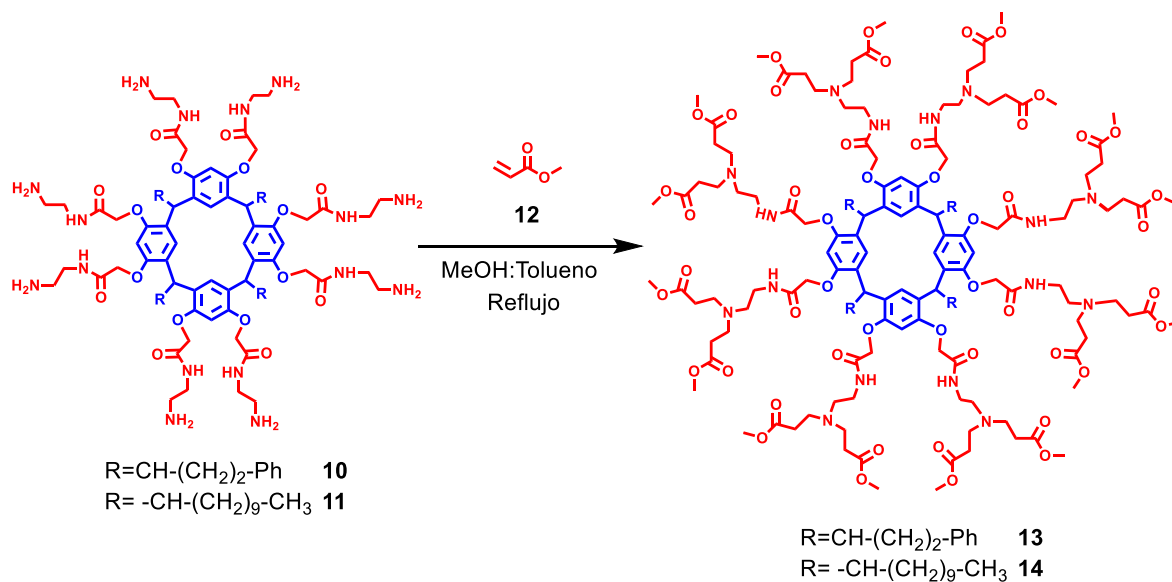
**Esquema 6.** Mecanismo de reacción para la obtención de los resorcinaren-dendrimeros G 1.0.

Teniendo en cuenta los resultados obtenidos por RMN de  $^1\text{H}$ ,  $^{13}\text{C}$ , espectrometría de masas y de la espectroscopía de infrarrojo, se concluye que se obtuvieron los resorcinaren-dendrímeros de primera generación; debido a la presencia de las dos bandas características de las vibraciones N-H de aminas primarias, así como las bandas anchas e intensas entre  $1660\text{-}1650\text{ cm}^{-1}$  correspondiente a las amidas.

Una vez sintetizados y caracterizados los resorcinaren-dendrímeros de primera generación (**10** y **11**) se procedió a sintetizar los resorcinaren-dendrímeros generación 1.5.

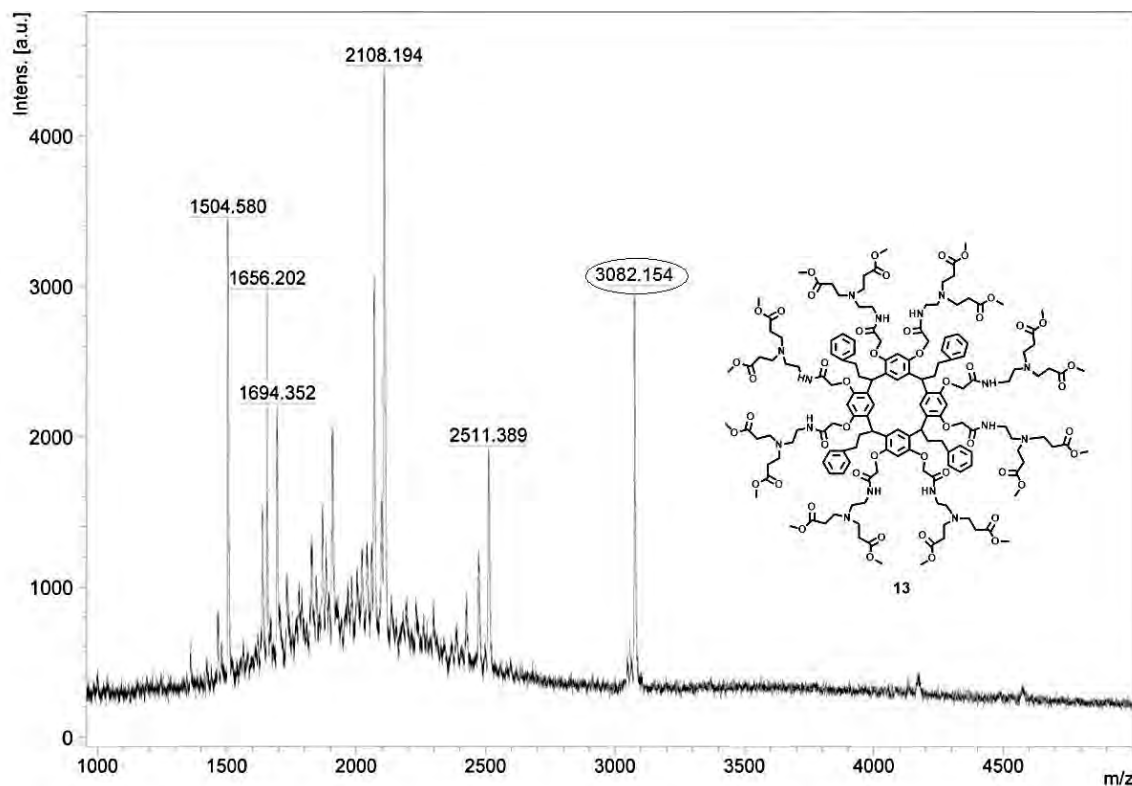
### 6.1.4. Resorcinarren-dendrimeros tipo PAMAM G 1.5

Los compuestos **10** y **11** se disolvieron en una mezcla de metanol y tolueno, posteriormente se adicionó acrilato de metilo **12**, para así obtener los compuestos **13** y **14** respectivamente. El compuesto **13** es un sólido de color café claro, se obtuvo con un rendimiento del 55.8%; por otra parte, el compuesto **14** se obtuvo con un rendimiento del 32.6%, siendo un sólido beige.



**Esquema 7.** Síntesis de los resorcinarren-dendrimeros **13** y **14** de generación 1.5.

El compuesto **13** se caracterizó por espectrometría de masas (MALDI-TOF). En la figura 8, se observa un pico a 3082.15 m/z, el cual corresponde al ión molecular  $\text{M}+1$  del compuesto **13**.

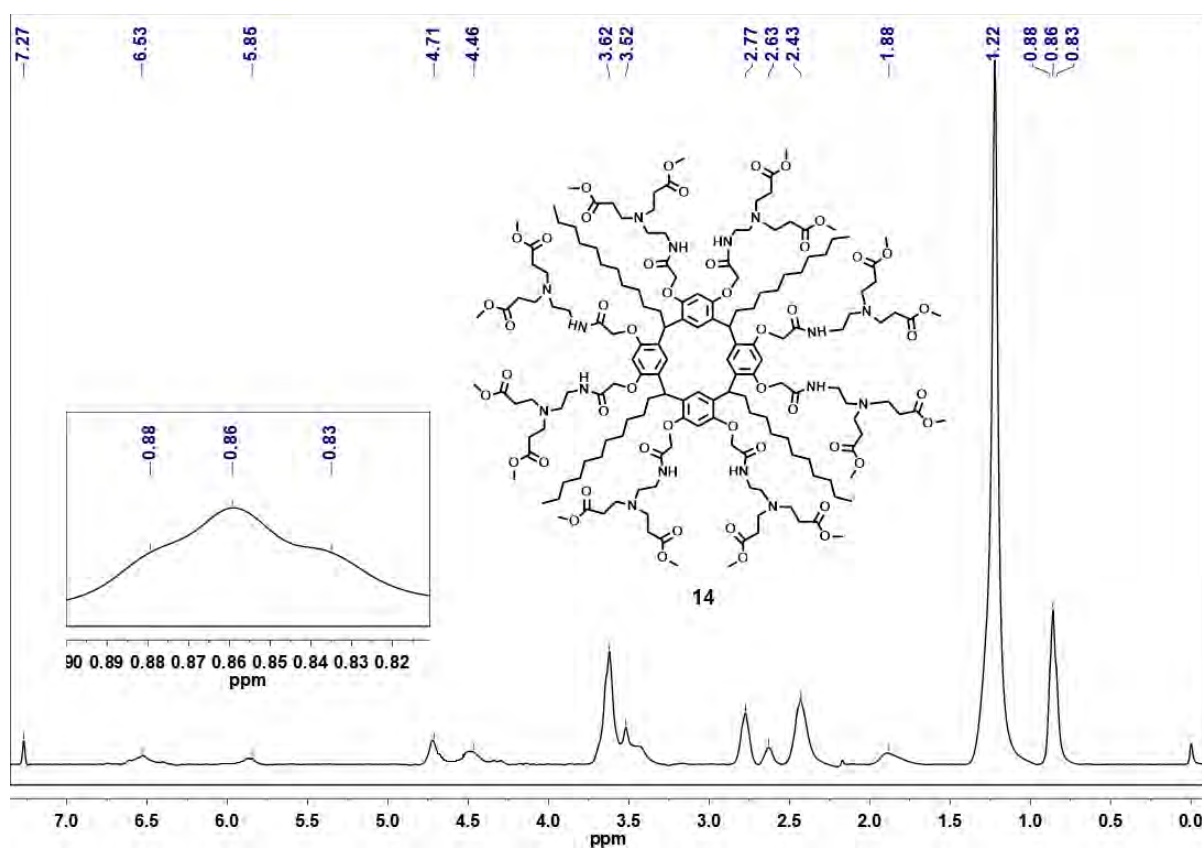


**Figura 8.** Espectrometría de masa (MALDI-TOF) del compuesto **13**.

El compuesto **14** fue caracterizado inicialmente por RMN- $^1\text{H}$ . En la figura 9 se observa a  $\delta_{\text{H}}$  0.86 un triplete, con una  $J= 6.0$  Hz correspondiente a los hidrógenos de los grupos metilos terminales de las cadenas alifáticas, a  $\delta_{\text{H}}$  1.22 se observa un singulete correspondiente a los hidrógenos de los metilenos ( $-\text{CH}_2-$ ) de las cadenas alifáticas. A  $\delta_{\text{H}}$  2.43 una señal ancha correspondiente a los hidrógenos de los metilenos unidos a los grupos carbonilos ( $\text{CH}_2-\text{C}=\text{O}$ ), a  $\delta_{\text{H}}$  2.63 una señal ancha indicando los hidrógenos de los metilenos unidos a los nitrógenos ( $\text{CH}_2-\text{N}$ ), por otra parte, a  $\delta_{\text{H}}$  3.52 una señal ancha correspondiente a los hidrógenos de los metilenos ( $\text{CH}_2-\text{NH}$ ) unidos a los grupos NH. La señal ancha a  $\delta_{\text{H}}$  3.62 indica la presencia de los hidrógenos de los metilos unidos a los oxígenos ( $\text{CH}_3-\text{O}$ ). A  $\delta_{\text{H}}$  4.46 se observa una señal ancha correspondiente a los hidrógenos de los metinos puentes del resorcinareno, mientras que a  $\delta_{\text{H}}$  4.71 se observa una señal ancha correspondiente a los hidrógenos de los metilenos unidos a oxígenos ( $\text{CH}_2-\text{O}$ ) y a  $\delta_{\text{H}}$  5.85 una señal ancha correspondiente a los hidrógenos de los grupos  $\text{N}-\text{H}$ . Finalmente, en la zona



de  $\delta_H$  6.53 a 7.27 se observan señales correspondientes a los hidrógenos de los anillos aromáticos del resorcinareno.



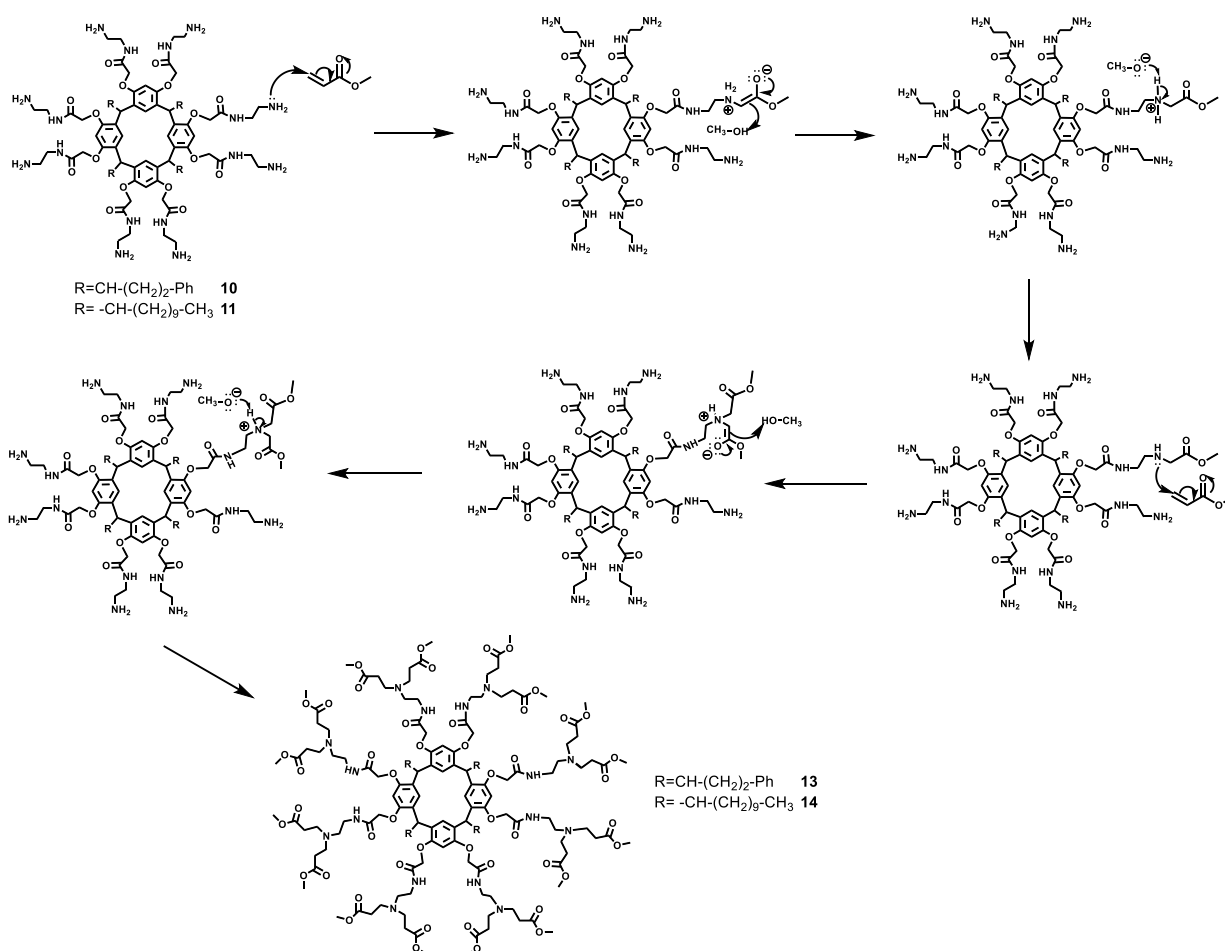
**Figura 9.** RMN- $^1H$  del compuesto **14** (300 MHz,  $CDCl_3$ ).

A continuación, se presenta el mecanismo de reacción para la obtención de los resorcinaren-dendrimeros de generación 1.5.

### ***Mecanismo de reacción***

La obtención de los resorcinaren-dendrimeros G 1.5 (**13** y **14**), es a partir de los resorcinaren-dendrimeros G 1.0 (**10** y **11**) y acrilato de metilo **12**. El mecanismo de reacción se lleva por medio de una adición de Michael (adición 1,4). Este tipo de reacciones se da entre compuestos  $\alpha,\beta$ -insaturados y un enolato de algún compuesto carbonílico.

La formación de los resorcinaren-dendrimeros G 1.5 inicia cuando el par de electrones de la amina primaria ataca al doble enlace del acrilato de metilo (compuesto carbonílico  $\alpha,\beta$ -insaturado), esto genera que el oxígeno quede cargado negativamente, posteriormente el oxígeno mete su par electrónico y se regenera el enlace  $\pi$  del carbonilo, el carbono  $\alpha$  abstrae un hidrógeno del medio de reacción (metanol), generando el ion metóxido. El ión metóxido abstrae un hidrógeno de la amina que había quedado cargada positivamente. Se realiza otra adición tipo Michael, generando aminas terciarias. Se realiza la misma reacción hasta completar todos los grupos en la periferia, obteniéndose los resorcinaren-dendrimeros G 1.5 (13 y 14).



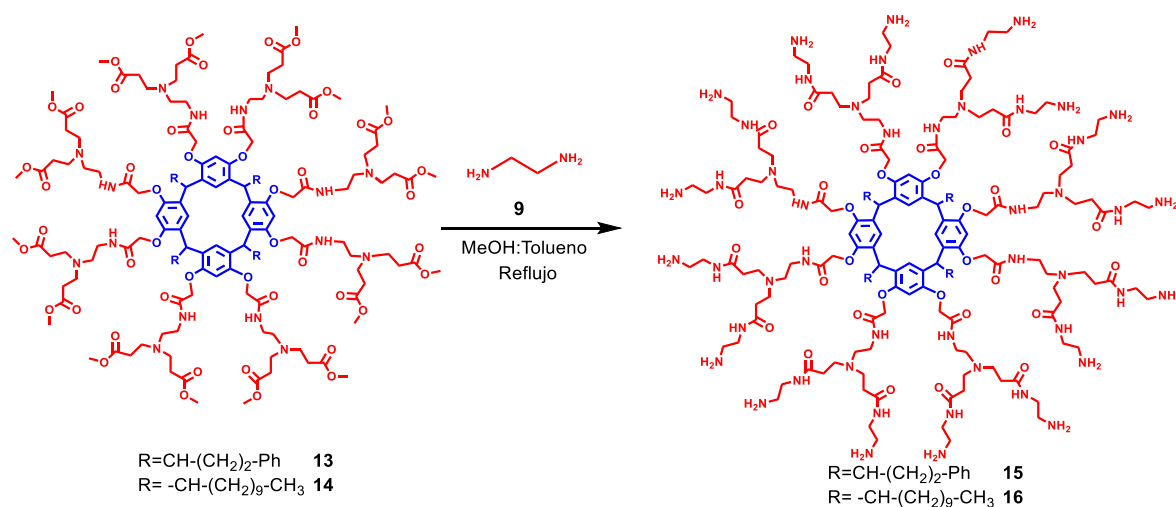
**Esquema 8.** Mecanismo de reacción para la obtención de los resorcinaren-dendrimeros G 1.5.

Con base en los resultados obtenidos en espectrometría de masas (figura 8), para el compuesto **13**, así como el RMN-<sup>1</sup>H (figura 9) del compuesto **14**, se concluye que se obtuvieron los resorcinaren-dendrimeros G 1.5 (**13** y **14**).

Una vez sintetizados y caracterizados los resorcinaren-dendrimeros G 1.5 (**13** y **14**) se procedió a sintetizar los resorcinaren-dendrimeros de segunda generación.

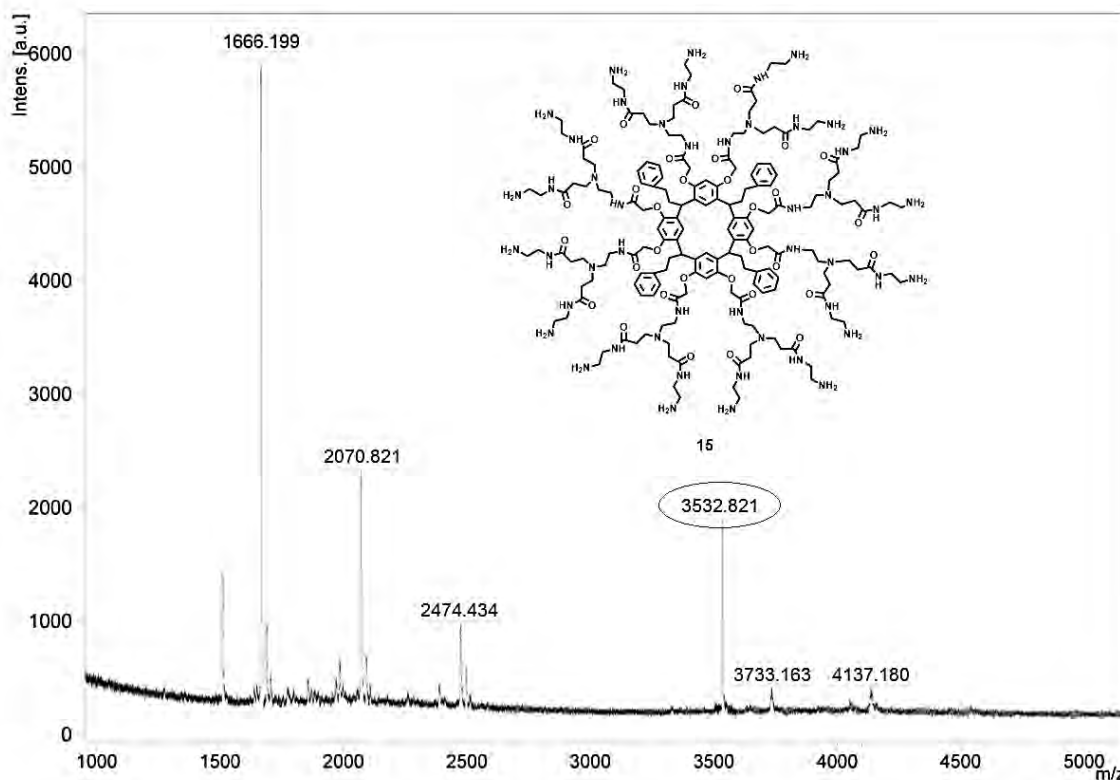
### 6.1.5. Resorcinaren-dendrimeros tipo PAMAM G 2.0

Partiendo de los compuestos **13** y **14** respectivamente, se disuelven en una mezcla de metanol y tolueno, posteriormente se adiciona etilendiamina **9** para así obtener los compuestos **15** y **16**. El compuesto **15** es un sólido de color café y se obtuvo con un rendimiento del 71.4%. Por otra parte, el compuesto **16** se obtuvo con un rendimiento del 62.0 %, siendo un sólido beige.



**Esquema 9.** Síntesis de los resorcinaren-dendrimeros **15** y **16** de generación 2.0.

El compuesto **15** se caracterizó por espectrometría de masas (MALDI-TOF), en la figura 10 se puede observar un pico a 3532.82 m/z, el cual corresponde al ión molecular M+2 del compuesto **15**.



**Figura 10.** Espectrometría de masas (MALDI-TOF) del compuesto **15**.

El compuesto **16** fue caracterizado mediante espectroscopía infrarrojo. En la figura 11 se observa a  $1661\text{ cm}^{-1}$  la banda correspondiente a las vibraciones del grupo carbonilo de una amida. A  $3395$  y  $3299\text{ cm}^{-1}$  se observan dos bandas características de las vibraciones N-H, de aminas primarias. A  $3082\text{ cm}^{-1}$  se observa una banda correspondiente a las vibraciones C-H de los anillos aromáticos. Mientras que a  $1533\text{ cm}^{-1}$  y  $1499\text{ cm}^{-1}$ , se observan las bandas correspondientes a las vibraciones C-C de los anillos aromáticos. Además, a  $2921$  y  $2851\text{ cm}^{-1}$  se observan las bandas correspondientes a las vibraciones C-H, indicando la presencia de metilos y metilenos, mientras que a  $718\text{ cm}^{-1}$  se observa la banda correspondiente a la vibración (rocking) de los metilenos de las cadenas alifáticas largas.

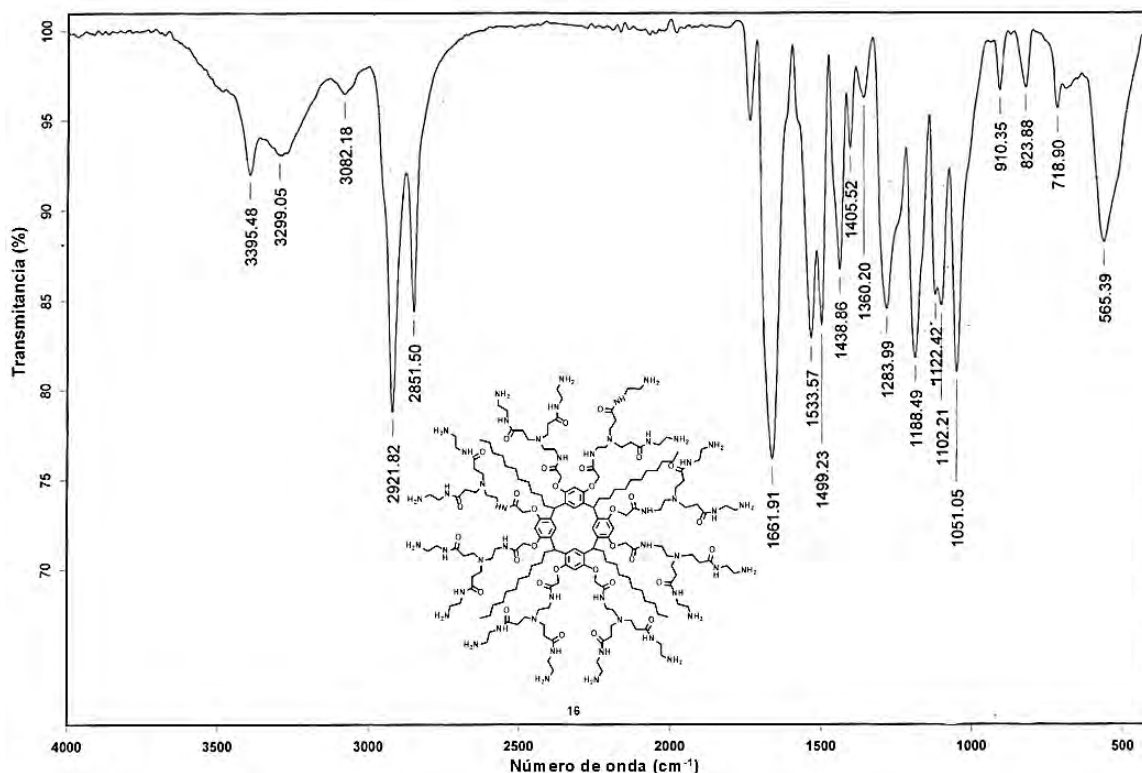


Figura 11. FTIR del compuesto 16.

El compuesto **15** se caracterizó por espectrometría de masas (MALDI-TOF). En la figura 10 se observa un pico a 3532.82 m/z [M+2]. Por otro lado, el compuesto **16**, fue caracterizado por espectroscopía de infrarrojo. En la figura 11 se puede observar la presencia de las dos bandas características de las vibraciones N-H de aminas primarias a 3395 y 3299 cm<sup>-1</sup>, así como la banda ancha e intensa a 1661 cm<sup>-1</sup>, confirmando la formación de la amida. Con base en los resultados obtenidos para los compuestos **15** y **16**, se concluye que la reacción de aminólisis se llevó a cabo exitosamente, obteniéndose los resorcinaren-dendrimeros de segunda generación.

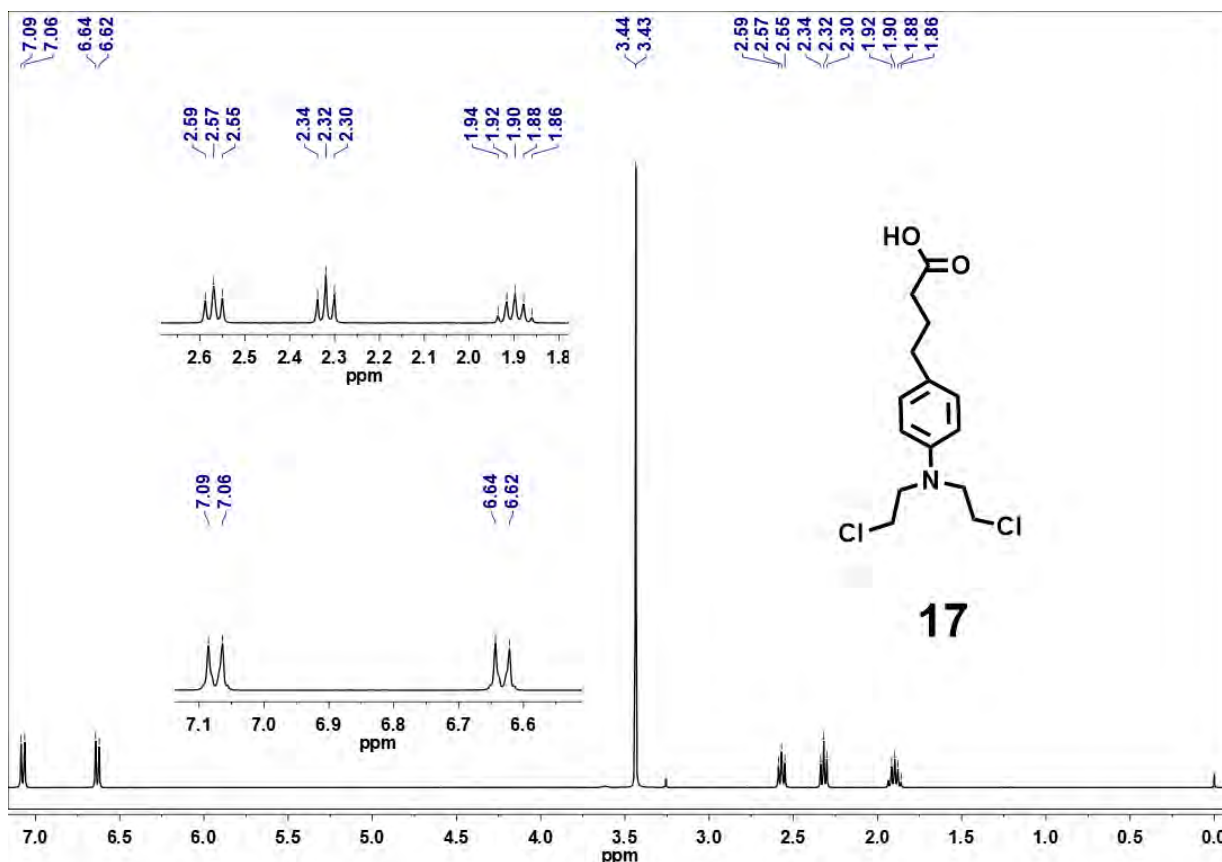
Una vez obtenidos y caracterizados los resorcinaren-dendrimeros de primera y segunda generación, se procedió a realizar los conjugados con clorambucilo. A continuación, se explicará acerca de la metodología utilizada, así como la discusión de estos.

## 6.2.0. Conjugados con clorambucilo.

### 6.2.1. Caracterización del clorambucilo.

Inicialmente se realizó la caracterización del clorambucilo, para posteriormente realizar la conjugación de los resorcinaren-dendrimeros con el clorambucilo **17**.

El compuesto **17** fue caracterizado por resonancia magnética nuclear de  $^1\text{H}$ . En la figura 12 se presenta el espectro de RMN- $^1\text{H}$ , en el cual se observa a  $\delta_{\text{H}}$  1.90 un quintuplete correspondiente a los hidrógenos  $\alpha$  del metileno al grupo carbonilo del clorambucilo con una constante de acoplamiento de  $J= 8.0$  Hz, a  $\delta_{\text{H}}$  2.32 un triplete correspondiente a los hidrógenos  $\beta$  de los metilenos con respecto a los grupos carbonilo del clorambucilo ( $\text{CH}_2\text{-C=O}$ ), con una constante de acoplamiento de  $J= 8.0$  Hz, a  $\delta_{\text{H}}$  2.57 un triplete correspondiente a los hidrógenos del metileno unido al anillo aromático del clorambucilo, con una constante de acoplamiento de  $J= 8.0$  Hz. Mientras que a  $\delta_{\text{H}}$  3.43 un singulete correspondiente a los hidrógenos de los metilenos unidos a los cloros ( $\text{CH}_2\text{-Cl}$ ) y a  $\delta_{\text{H}}$  3.44 un singulete correspondiente a los hidrógenos de los metilenos unidos a nitrógeno del grupo mostaza del clorambucilo ( $\text{CH}_2\text{-N}$ ). En la zona de  $\delta_{\text{H}}$  6.62 a 7.09 se observan dos dobletes ( $\text{AA}'$ ,  $\text{BB}'$ ) correspondientes a los hidrógenos de los anillos aromáticos del clorambucilo, con una constante de acoplamiento de  $J= 8.0$  Hz y  $J= 12.0$  Hz, respectivamente.



**Figura 12.** RMN-<sup>1</sup>H del clorambucilo **17** (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>).

El compuesto **17**, también fue caracterizado por resonancia magnética nuclear de <sup>13</sup>C. En la figura 13 se presenta el espectro de RMN-<sup>13</sup>C, en el cual se observa a δ<sub>c</sub> 26.7 una señal correspondiente al carbono del metileno del clorambucilo, a δ<sub>c</sub> 33.4 una señal correspondiente al carbono del metileno unido al grupo carbonilo (CH<sub>2</sub>-C=O), a δ<sub>c</sub> 33.4 una señal correspondiente al carbono del metileno unido al anillo aromático del clorambucilo. Mientras que a δ<sub>c</sub> 40.5 una señal correspondiente a los carbonos de los metilenos unidos a nitrógeno del grupo mostaza del clorambucilo (CH<sub>2</sub>-N) y a δ<sub>c</sub> 53.5 una señal correspondiente a los carbonos de los metilenos unidos a los cloros (CH<sub>2</sub>-Cl). En la zona de δ<sub>c</sub> 112.2 a 144.3 se observan señales correspondientes a los carbonos de los anillos aromáticos del clorambucilo. Finalmente, a δ<sub>c</sub> 176.7 se observa una señal correspondiente al carbono del grupo carbonilo (C=O).

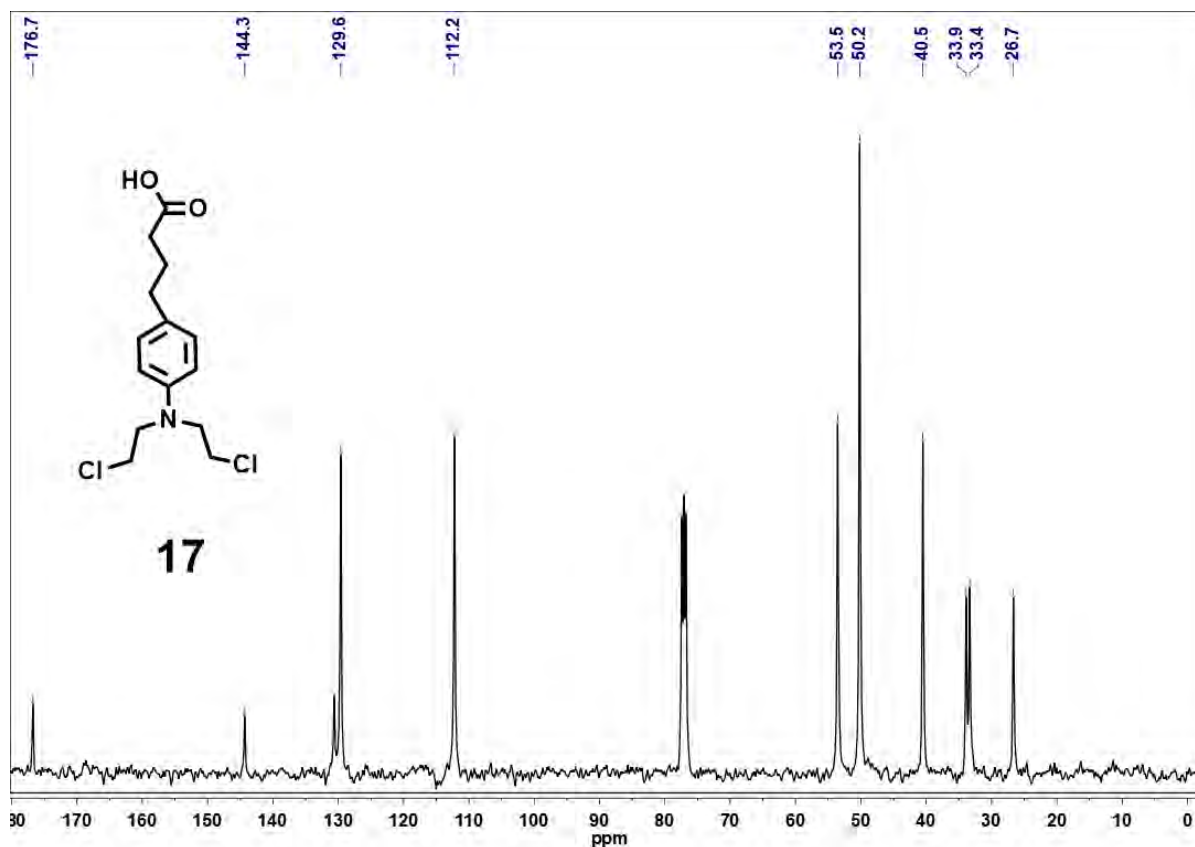
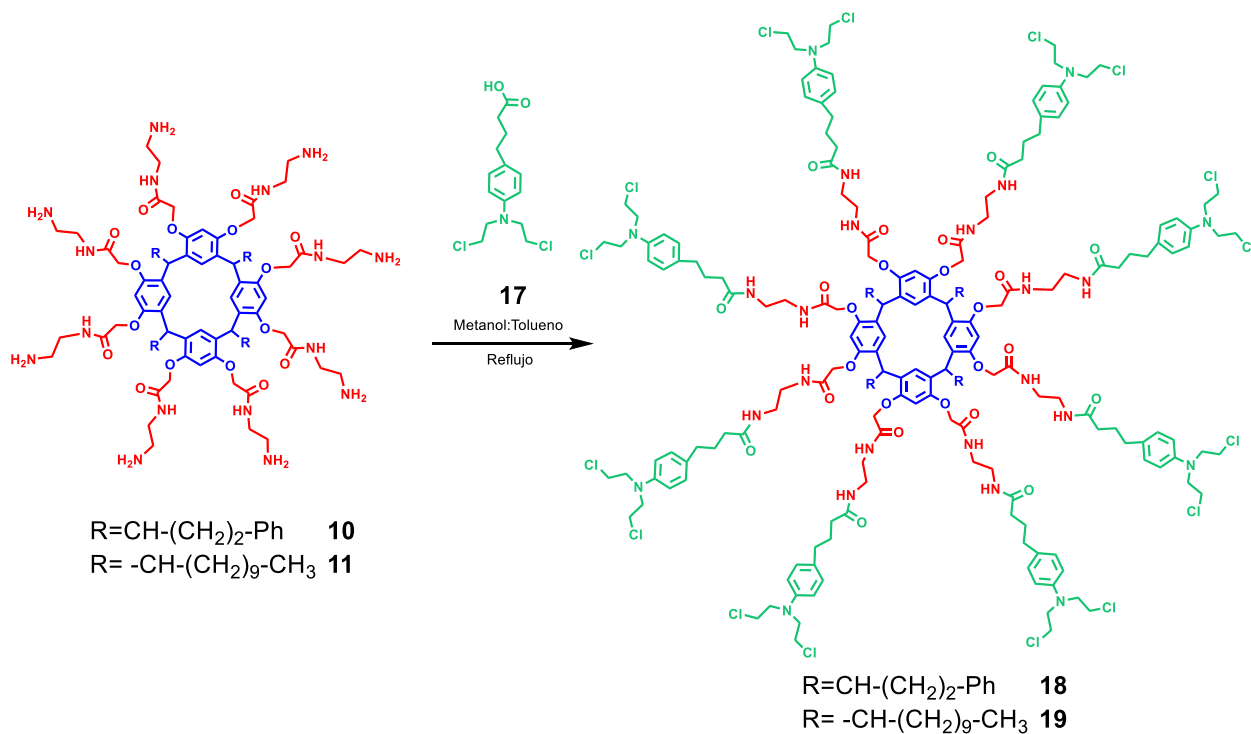


Figura 13. RMN-<sup>13</sup>C clorambucilo **17** (75 MHz, CDCl<sub>3</sub>).

### 6.2.2. Resorcinaren-dendrimeros tipo PAMAM G 1.0 conjugado con clorambucilo.

Los compuestos **10** y **11** se disolvieron en una mezcla de metanol y tolueno, posteriormente se agregaron 8 equivalentes de clorambucilo **17**, la reacción se mantuvo a reflujo durante 7 días para finalmente obtener los compuestos **18** y **19** respectivamente. El compuesto **18**, es un sólido de color café, con un rendimiento del 71.5%. Por otra parte, el compuesto **19**, es un sólido color café claro con un rendimiento del 85.3%.

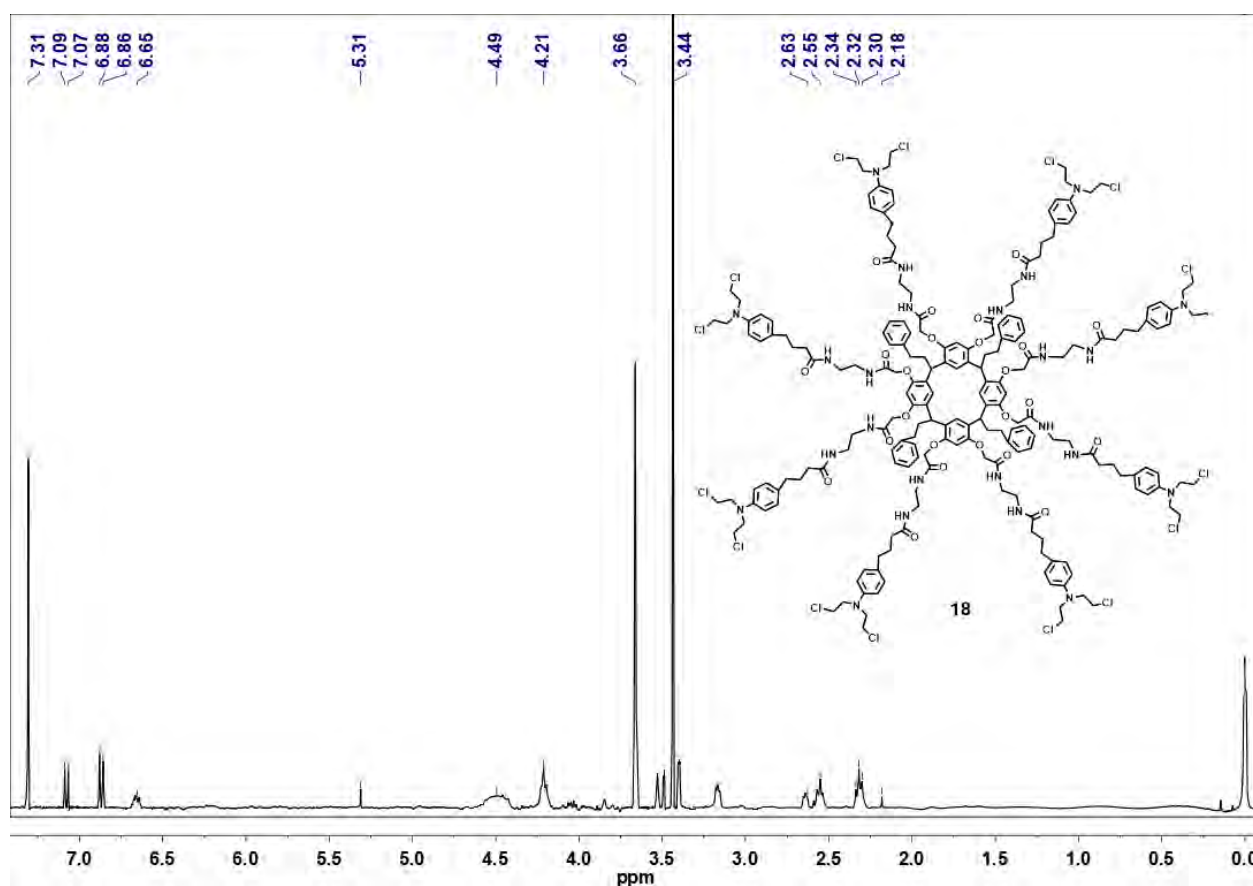




**Esquema 10.** Síntesis de los conjugados de los resorcinaren-dendrimeros **18** y **19** de generación 1.0 con clorambucilo.

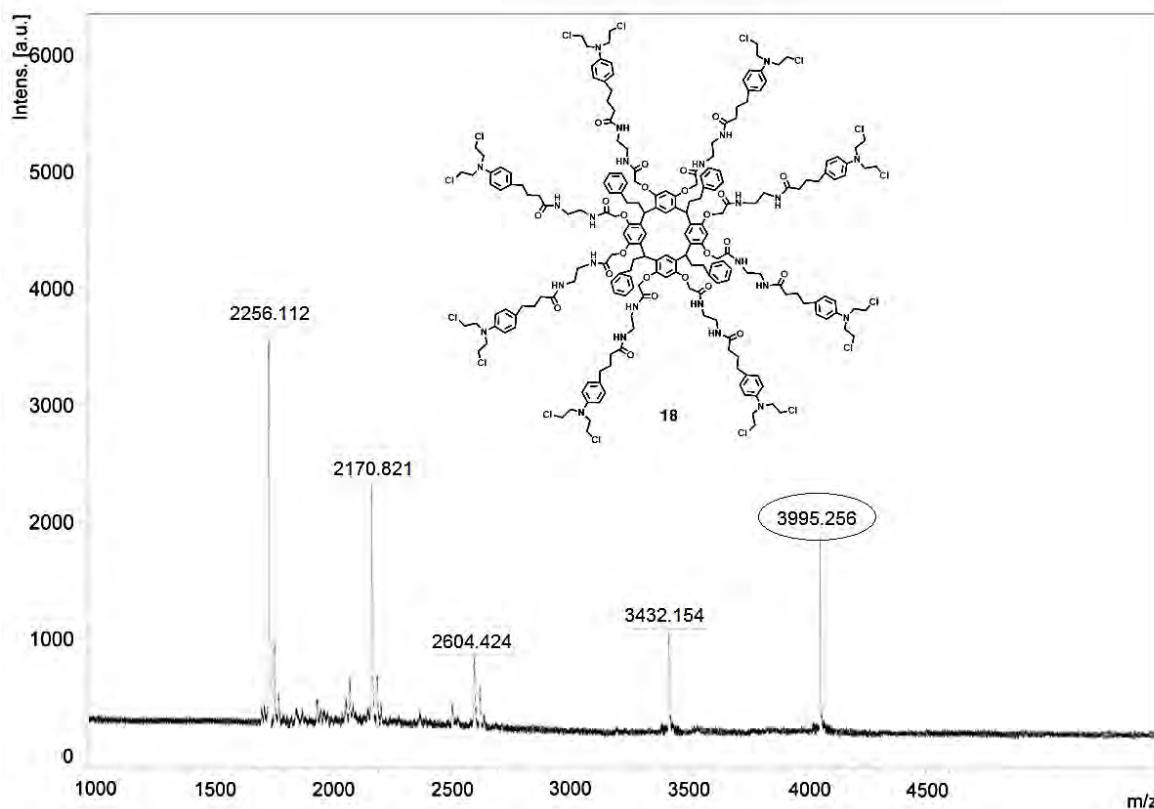
El compuesto **18** fue caracterizado inicialmente por resonancia magnética nuclear de  $^1\text{H}$ . En la figura 14 se presenta el espectro de RMN- $^1\text{H}$ , en el cual se observa a  $\delta_{\text{H}}$  2.18 un singlete correspondiente a los hidrógenos  $\beta$  de los metilenos con respecto a los grupos amida de los clorambucilo, a  $\delta_{\text{H}}$  2.32 un triplete correspondiente a los hidrógenos  $\alpha$  a los grupos metilenos unidos a los carbonilos ( $\text{CH}_2-\text{C}=\text{O}$ ) con una constante de acoplamiento de  $J= 8.0$  Hz. A  $\delta_{\text{H}}$  2.55 una señal ancha correspondiente a los hidrógenos de los metilenos ( $-\text{CH}_2-$ ) unidos a los anillos aromáticos de los clorambucilos, a  $\delta_{\text{H}}$  2.63 la señal de los hidrógenos de los metilenos unidos a los anillos aromáticos de la parte inferior del resorcinareno, a  $\delta_{\text{H}}$  3.44 un singlete correspondiente a los hidrógenos de los metilenos unidos a los nitrógenos de los grupos mostaza de los clorambucilos ( $\text{CH}_2-\text{N}$ ), así como a los hidrógenos de los metilenos unidos al grupo NH ( $\text{NH}-\text{CH}_2$ ). A  $\delta_{\text{H}}$  3.66 un singlete correspondiente a los hidrógenos de los metilenos unidos a los cloros ( $\text{CH}_2-\text{Cl}$ ) de los clorambucilos, mientras que a  $\delta_{\text{H}}$  4.21 se observa la señal ancha correspondiente a los hidrógenos de los metinos puentes del resorcinareno. A  $\delta_{\text{H}}$

4.49 una señal ancha indicando la presencia de los hidrógenos unidos a los metilenos unidos a oxígeno ( $\text{CH}_2\text{-O}$ ), a  $\delta_{\text{H}}$  5.31 un singulete correspondiente a los hidrógenos de los grupos  $\text{NH}$  del resorcinaren-dendrímico y a  $\delta_{\text{H}}$  6.65 una señal ancha correspondiente a los hidrógenos de los anillos aromáticos de la cadena inferior del resorcinaren. En la zona de  $\delta_{\text{H}}$  6.88 a 7.09 se observan dos dobletes correspondientes a los hidrógenos de los anillos aromáticos de los clorambucilos, con una constante de acoplamiento de  $J= 8.0$  H. Finalmente a  $\delta_{\text{H}}$  7.31 se observa una señal ancha correspondiente a los hidrógenos de los anillos aromáticos del resorcinaren.



**Figura 14.** RMN- $^1\text{H}$  del resorcinaren dendrímicos tipo PAMAM G 1.0 conjugado con clorambucilo **18** (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ).

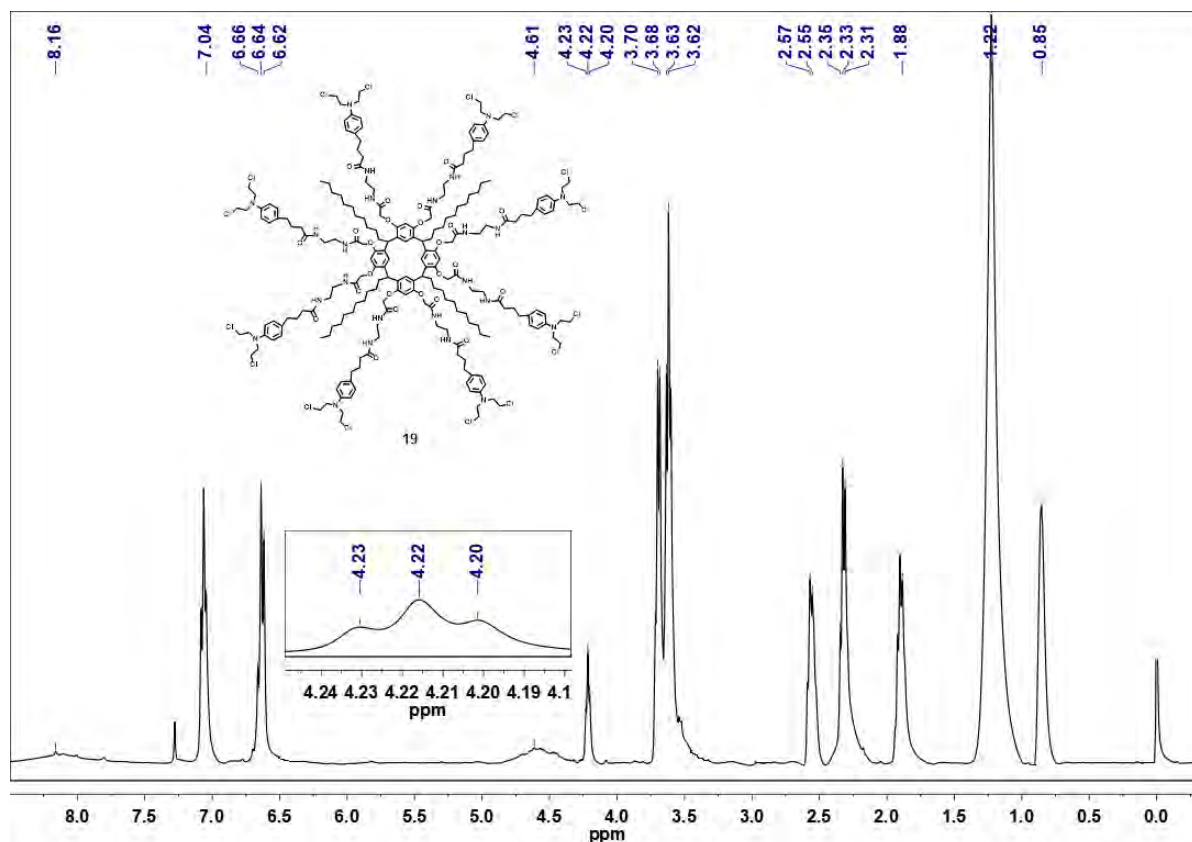
La obtención del compuesto **18** se confirmó por espectrometría de masas (MALDI-TOF). En la figura 15, se puede observar una señal a 3995.25 m/z, la cual corresponde a la masa molecular del conjugado de primera generación **18**.



**Figura 15.** Espectrometría de masas (MALDI-TOF) del compuesto **18**.

El conjugado **19** fue caracterizado mediante RMN- $^1\text{H}$ . En la figura 16 se observa una señal ancha a  $\delta_{\text{H}}$  0.85 correspondiente a los hidrógenos de los metilos ( $-\text{CH}_3$ ) terminales de las cadenas alifáticas, a  $\delta_{\text{H}}$  1.22 y a 1.88 se observan singuletes correspondiente a los hidrógenos de los metilenos ( $-\text{CH}_2-$ ) de las cadenas alifáticas, a  $\delta_{\text{H}}$  2.33 una señal ancha correspondiente a los hidrógenos  $\alpha$  de los metilenos unidos a los grupos carbonilos, a  $\delta_{\text{H}}$  2.55 se observa un singulete correspondiente a los hidrógenos  $\beta$  de los metilenos con respecto a los grupos amida de los clorambucilos, mientras que a  $\delta_{\text{H}}$  2.57 se observa una señal ancha correspondiente a los hidrógenos de los metilenos unidos a los anillos aromáticos de los clorambucilos. Por otra parte, a  $\delta_{\text{H}}$  3.62 y a  $\delta_{\text{H}}$  3.53 se observan dos singuletes

correspondientes a los hidrógenos de los metilenos unidos a los grupos NH ( $\text{NH-CH}_2$ ), a  $\delta_{\text{H}}$  3.68 un singulete correspondiente a los hidrógenos de los metilenos unidos a los cloros de las cadenas alquilcloradas de los clorambucilos; por otra parte, a  $\delta_{\text{H}}$  3.70 un singulete correspondiente a los hidrógenos de los metilenos unidos a los nitrógenos de los grupos mostaza de los clorambucilos. Mientras que a  $\delta_{\text{H}}$  4.22 in triplete indicando la presencia de los hidrógenos unidos a los metilenos unidos a los oxígenos ( $\text{CH}_2\text{-O}$ ) con una constante de acoplamiento de  $J= 8.0$  Hz, a  $\delta_{\text{H}}$  4.61 se observa la señal ancha correspondiente a los hidrógenos de los metinos puentes del resorcinareno. En la zona de  $\delta_{\text{H}}$  6.62 a 6.67 se observa un multiplete correspondiente a los hidrógenos de los anillos aromáticos de los clorambucilos, a  $\delta_{\text{H}}$  7.04 una señal correspondiente a los hidrógenos de los anillos aromáticos del resorcinareno. Finalmente, a  $\delta_{\text{H}}$  8.16 se observa un singulete correspondiente los hidrógenos unidos al nitrógeno ( $\text{NH}$ ).



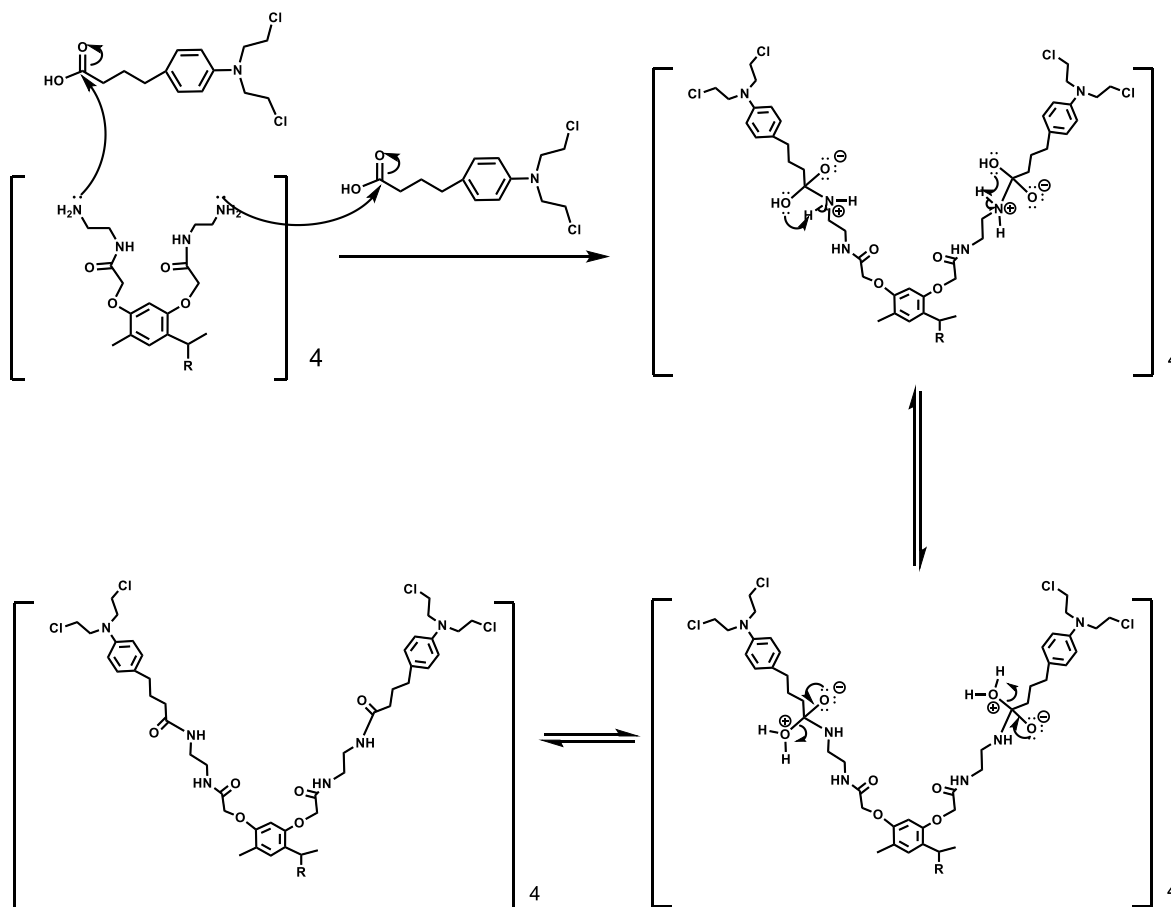
**Figura 16.** RMN- $^1\text{H}$  del resorcinaren dendrímeros tipo PAMAM G 1.0 conjugado con clorambucilo **19** (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ).

A continuación, se presenta el mecanismo de reacción para la obtención de los conjugados.

### ***Mecanismo de reacción***

El mecanismo de reacción para la formación de los conjugados, se lleva a cabo mediante una reacción de condensación, en la que dos moléculas se combinan: los resorcinaren-dendrímeros tipo PAMAM de primera generación con el clorambucilo, para dar un único producto (conjugado) acompañado de la formación de molécula de agua ( $H_2O$ ).

Tal como se muestra en el esquema **11**, el mecanismo de reacción consiste en el ataque nucleofílico del nitrógeno de la amina terminal del resorcinaren-dendrímero de primera generación, sobre el grupo carbonilo del clorambucilo, dado que la reacción se lleva a cabo a altas temperaturas se ve favorecida el ataque nucleofílico para formar la amida; es decir, se realiza una sustitución nucleofílica al acilo, es entonces como el nitrógeno queda cargado positivamente y el oxígeno queda cargado negativamente, el grupo hidroxilo abstrae un hidrógeno de la amina que había quedado cargado positivamente. Posteriormente se regenera la doble ligadura entre el carbono y el oxígeno, eliminando una molécula de agua y formándose así las amidas correspondientes. Los pasos mencionados anteriormente ocurren en todos y cada uno de los brazos dendriméricos, formándose así los conjugados correspondientes.

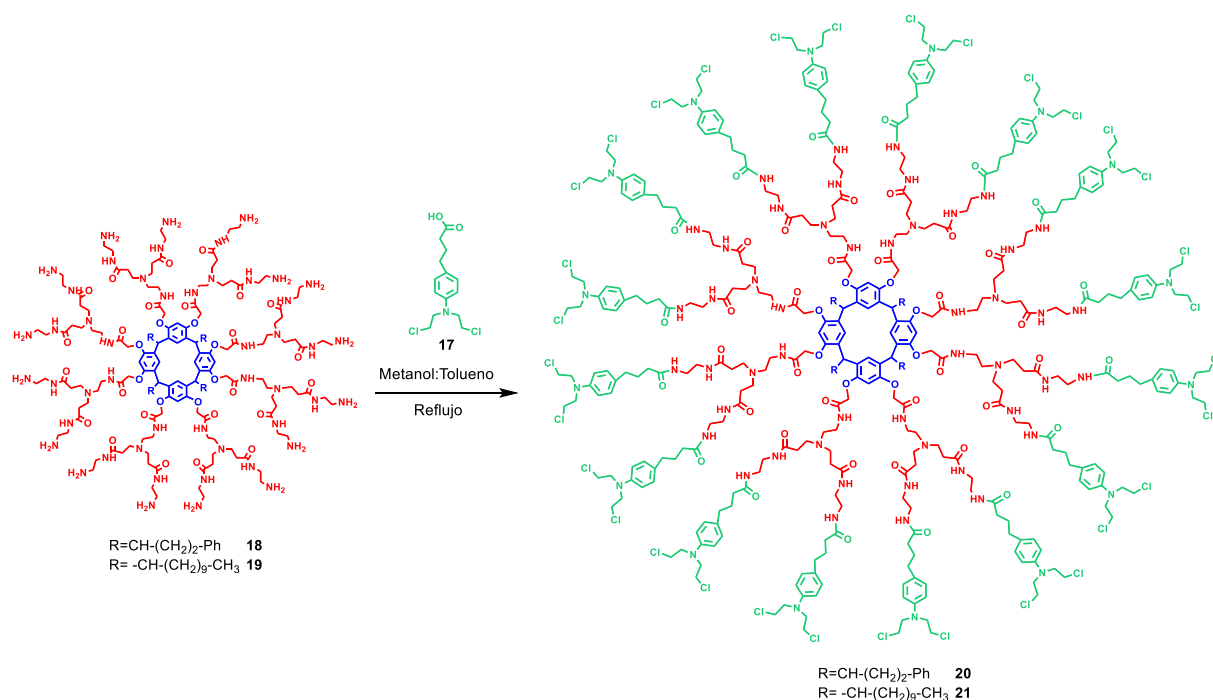


**Esquema 11.** Mecanismo de reacción para la formación de los conjugados de primera generación.

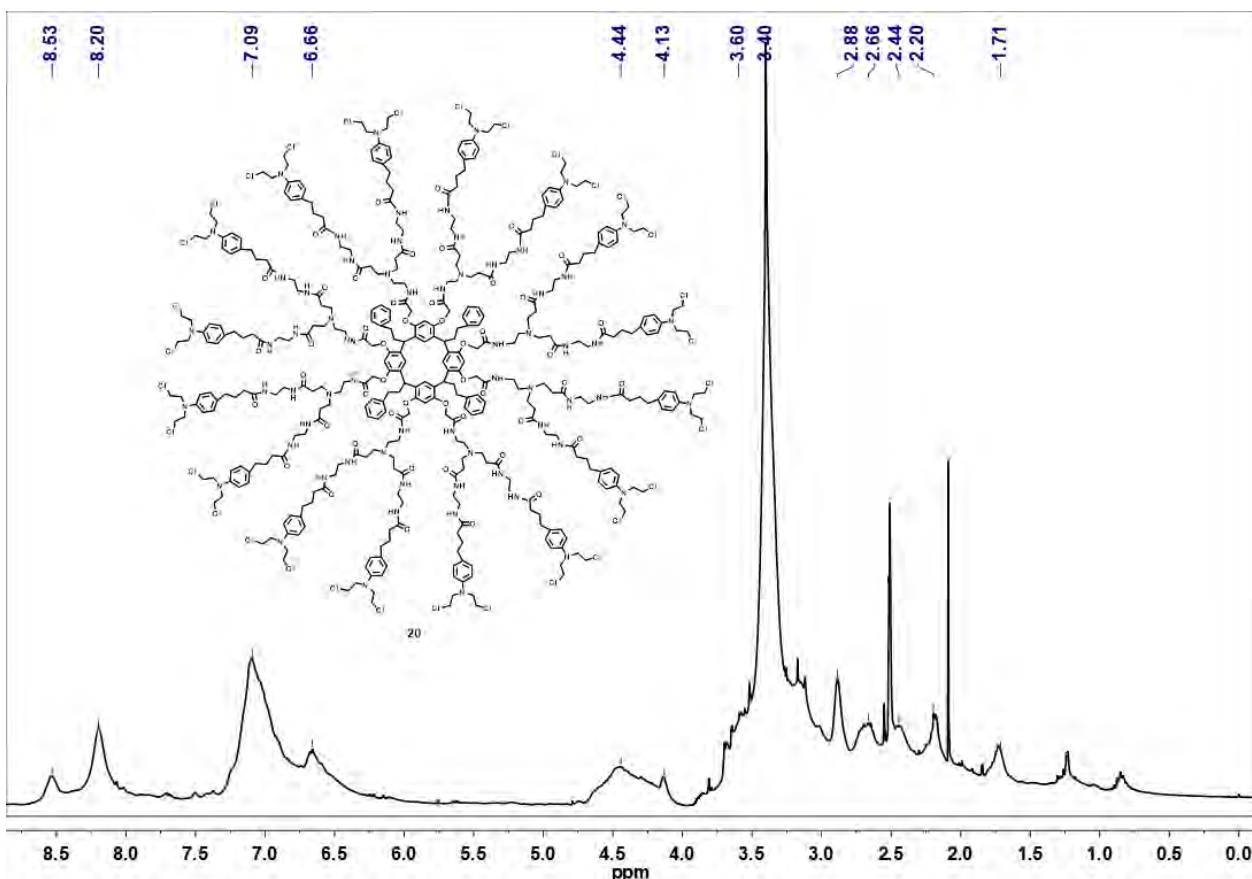
Con base en las señales observadas en los espectros de RMN-<sup>1</sup>H, se concluye que se obtuvieron los conjugados con clorambucilo de primera generación.

### 6.2.3. Resorcinaren-dendrimeros tipo PAMAM G 2.0 conjugado con clorambucilo.

Los compuestos **18** y **19** se disolvieron en una mezcla de metanol y tolueno, posteriormente se adicionaron 16 equivalentes de clorambucilo **17**. La mezcla de reacción se mantuvo a reflujo durante 10 días, obteniéndose los compuestos **20** y **21**. El compuesto **20** es un sólido de color beige, siendo el rendimiento obtenido del 52.5%. Por otra parte, el compuesto **21** se obtuvo con un rendimiento del 32.6%, siendo un sólido color marrón dorado.



**Esquema 12.** Síntesis de los conjugados de los resorcinaren-dendrimeros **20** y **21** de generación 2.0 con clorambucilo.

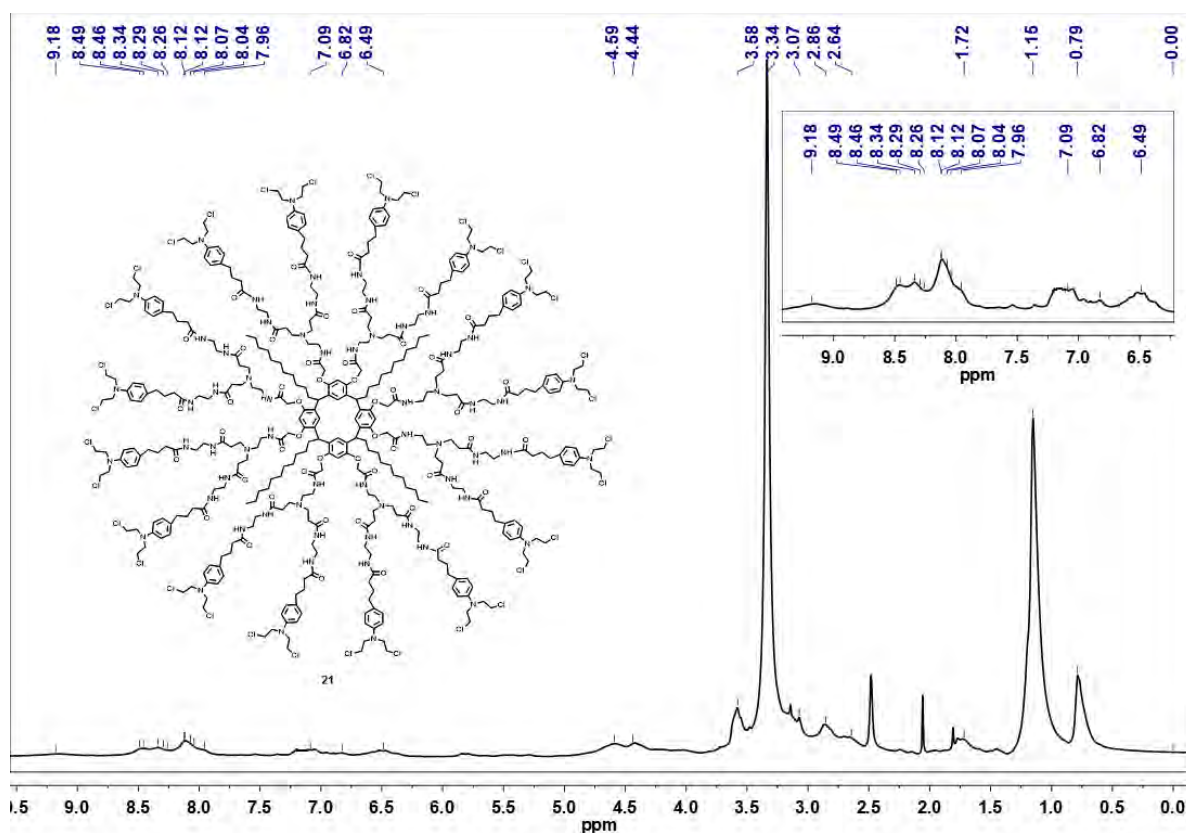


**Figura 17.** RMN<sup>1</sup> H del resorcinaren-dendrimeros tipo PAMAM G 2.0 conjugado con clorambucilo **20** (400 MHz, (CD<sub>3</sub>)<sub>2</sub>SO).

El conjugado de segunda generación **20** fue caracterizado mediante RMN-H<sup>1</sup>. En el espectro (figura 17), se puede observar una señal ancha a  $\delta_H$  1.71 correspondiente a los hidrógenos  $\beta$  de los metilenos con respecto a los grupos amida de los clorambucilo, a  $\delta_H$  2.20 una señal ancha correspondiente a los hidrógenos  $\alpha$  de los metilenos unidos a los grupos carbonilos de los clorambucilos. Por otra parte, a  $\delta_H$  2.44 se observa una señal ancha correspondiente los hidrógenos de los metilenos (-CH<sub>2</sub>-) de la parte inferior del resorcinareno. A  $\delta_H$  2.66 se observa una señal ancha correspondiente a los hidrógenos de los metilenos unidos a los anillos aromáticos de los resorcinarenos, mientras que a  $\delta_H$  2.88 se observa una señal ancha correspondiente a los hidrógenos de los metilenos unidos a los grupos amidas. A  $\delta_H$  3.40 una señal ancha e intensa correspondiente a los hidrógenos de los metilenos de las cadenas aquilcloradas de los clorambucilos, así como a los hidrógenos de



los metilenos de los grupos  $\text{CH}_2\text{-NH}$  y  $\text{N-CH}_2$ , respectivamente; además de los hidrógenos de los metilenos unidos a los grupos amidas correspondientes a la segunda generación. Por otra parte, a  $\delta_{\text{H}}$  3.60 se observa una señal ancha correspondiente a los hidrógenos de los metilenos de los grupos  $\text{CH}_2\text{-N}$ . A  $\delta_{\text{H}}$  4.13 se observa una señal ancha correspondiente a los hidrógenos de los metinos puentes. A  $\delta_{\text{H}}$  4.44 se observa una señal ancha correspondiente a los hidrógenos de los metilenos unidos a oxígeno. En la zona de aromáticos se observa dos señales anchas a  $\delta_{\text{H}}$  6.68 y  $\delta_{\text{H}}$  8.53 correspondientes a los hidrógenos de los anillos aromáticos del núcleo del dendrímero (resorcinareno), a  $\delta_{\text{H}}$  7.09 se observa una señal ancha correspondiente a los hidrógenos de los anillos aromáticos de clorambucilo, mientras que a  $\delta_{\text{H}}$  8.20 se observa una señal ancha correspondiente a los hidrógenos de los anillos aromáticos de la parte inferior del resorcinareno.



**Figura 18.** RMN<sup>1</sup> H del resorcinaren-dendrímeros tipo PAMAM G 2.0 conjugado con clorambucilo **21** (400 MHz,  $(\text{CD}_3)_2\text{SO}$ ).

El conjugado de segunda generación **21** fue caracterizado inicialmente mediante RMN- $^1\text{H}$ . En el espectro (figura 18), se puede observar una señal ancha a  $\delta_{\text{H}}$  0.79 correspondiente a los hidrógenos de los metilos terminales de las cadenas alifáticas, a  $\delta_{\text{H}}$  1.15 una señal ancha correspondiente a los hidrógenos de los metilenos de las cadenas alifáticas. A  $\delta_{\text{H}}$  1.72 una señal ancha correspondiente a los hidrógenos  $\beta$  de los metilenos con respecto a los grupos amida de los clorambucilos, a  $\delta_{\text{H}}$  2.69 una señal ancha correspondiente a los hidrógenos  $\alpha$  de los metilenos unidos los grupos amidas del clorambucilo. Por otra parte, a  $\delta_{\text{H}}$  2.86 una señal ancha correspondiente a los hidrógenos de los metilenos unidos a los grupos amidas, a  $\delta_{\text{H}}$  3.07 una señal ancha correspondiente a los hidrógenos de los metilenos unidos a los anillos aromáticos del clorambucilo. A  $\delta_{\text{H}}$  3.34 una señal ancha e intensa correspondiente a los hidrógenos de los metilenos de las cadenas acilcloradas de los clorambucilos, así como a los hidrógenos de los metilenos de los grupos  $\text{CH}_2\text{-NH}$  y  $\text{CH}_2\text{-N}$ , respectivamente; además de los hidrógenos de los metilenos unidos a los grupos amidas correspondientes a la segunda generación. A  $\delta_{\text{H}}$  4.44 se observa una señal ancha correspondiente a los hidrógenos de los metinos puentes, a  $\delta_{\text{H}}$  4.59 se observa una señal ancha correspondiente a los metilenos unidos a oxígeno. A  $\delta_{\text{H}}$  6.49 y  $\delta_{\text{H}}$  9.18 dos señales anchas respectivamente, correspondiente a los hidrógenos los anillos aromáticos del núcleo (resorcinareno), a  $\delta_{\text{H}}$  6.82 y  $\delta_{\text{H}}$  7.09 se observan dos señales anchas correspondientes a los hidrógenos de los anillos aromáticos de los clorambucilos. En la zona de  $\delta_{\text{H}}$  7.96-8.49 se observa un multiplete correspondiente a los hidrógenos de los anillos aromáticos de los clorambucilos.

Con base a las señales observadas en los espectros de RMN- $^1\text{H}$ , se concluye que se obtuvieron los conjugados con clorambucilo de segunda generación (**20** y **21**). Una vez sintetizados y caracterizados los conjugados de primera y segunda generación, se procedió a realizar las pruebas de actividad citotoxicidad.

# Capítulo 7

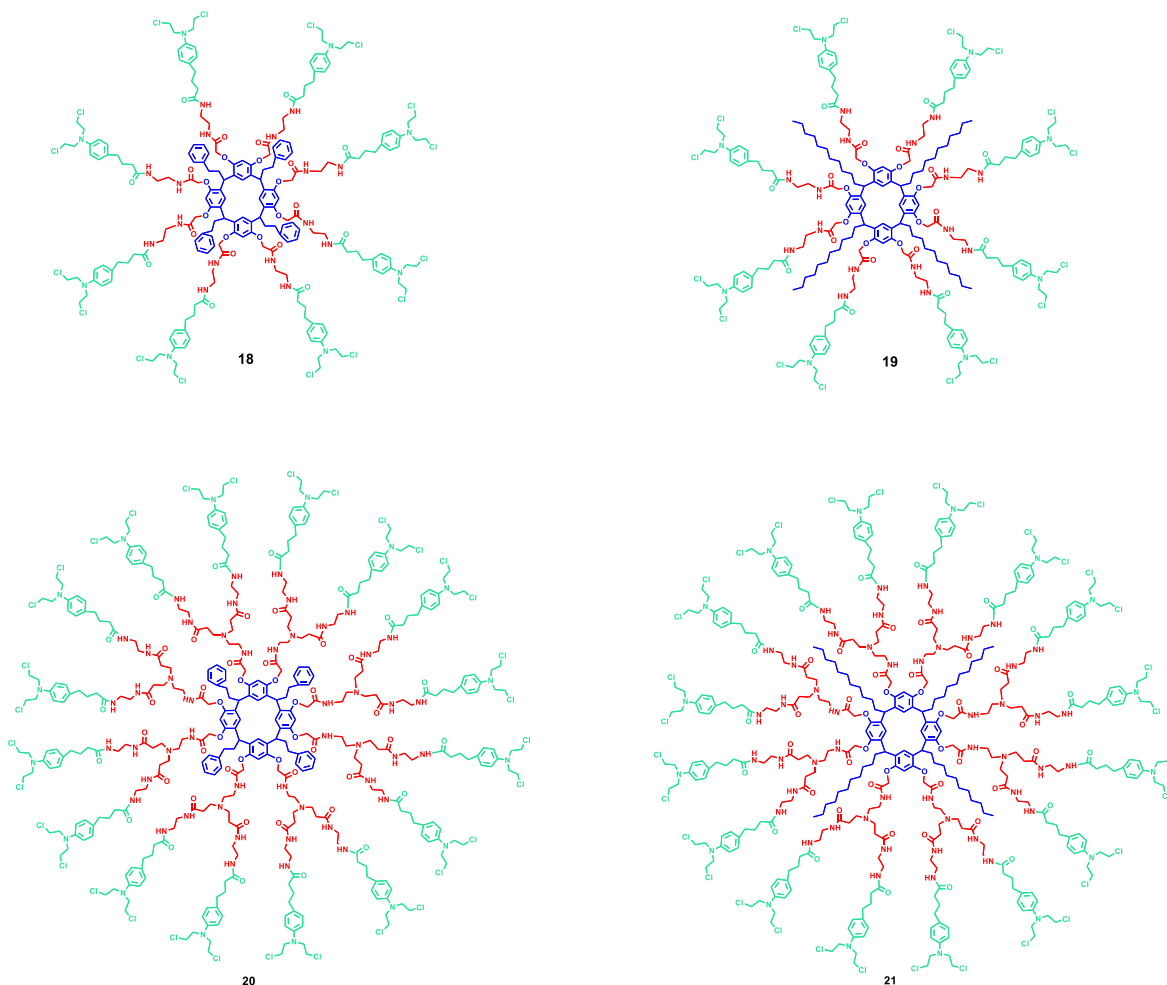


Pruebas de  
actividad citotóxica

## ***7. Pruebas de actividad citotóxica.***

Se realizaron pruebas de actividad biológicas de citotoxicidad a los compuestos **18**, **19**, **20** y **21**, en siete líneas celulares: cáncer de glía de sistema nervioso central (**U251**), cáncer de próstata (**PC-3**), cáncer de leucemia (**K562**), cáncer de colon (**HCT-15**), cáncer de mama (**MCF-7**), cáncer de pulmón (**SKLU**), cultivo primario de fibroblastos gingivales humanos sanos (**FGH**), los ensayos de citotoxicidad se determinaron usando el colorante de unión a la proteína sulforodamina B (SRB) en microcultivo para medir el crecimiento celular, como se describe en los protocolos establecidos por el Instituto Nacional de Cáncer (NCI)<sup>60</sup>. Los conjugados de clorambucilo se prepararon como soluciones madre a una concentración de 25  $\mu\text{M}$  en DMSO y se añadieron al medio de cultivo. Las células control se trataron con DMSO.

Las pruebas de citotoxicidad se realizaron empleando la misma concentración del clorambucilo para evitar que se tuviera una mayor concentración del fármaco en las pruebas, es decir, se dividió la disolución empleada entre 8 y 16 que es el número de fármacos para los conjugados de primera y segunda generación respectivamente, para no afectar la relación fármaco-actividad. A continuación, en la tabla 3 se presentan los resultados obtenidos para los compuestos **18**, **19**, **20** y **21**.



**Figura 19.** Estructuras de los conjugados de primera generación (**18** y **19**) y de segunda generación (**20** y **21**)

**Tabla 3.** Pruebas de citotoxicidad del clorambucilo libre y los conjugados **18**, **19**, **20** y **21** en 7 líneas celulares a una concentración de 25  $\mu$ M en DMSO.

Compuesto	% de inhibición del crecimiento por la línea celular						
	U251	PC-3	K562	HCT-15	MCF-7	SKLU-1	FGH
<b>Clorambucilo</b>	94.5	26.0	55.3	78.2	72.3	89.9	80.2
<b>18</b>	68.3	26.4	68.9	26.6	64.8	42.4	21.8
<b>19</b>	10.0	44.9	75.9	30.5	59.3	44.1	25.2
<b>20</b>	68.2	26.0	88.6	23.1	24.2	18.0	20.2
<b>21</b>	67.2	65.3	85.7	60.4	63.0	60.2	19.3

Cáncer de glía de sistema nervioso central (**U251**), cáncer de próstata (**PC-3**), cáncer de leucemia (**K562**), cáncer de colon (**HCT-15**), cáncer de mama (**MCF-7**), cáncer de pulmón (**SKLU**), cultivo Primario de Fibroblastos Gingivales Humanos sanos (**FGH**).

De la tabla 3 se puede observar que el clorambucilo libre no es selectivo ya que inhibe el crecimiento en prácticamente en todas las líneas celulares siendo más activo en las líneas de cáncer de glía de sistema nervioso central (*U251*), cáncer de colon (*HCT-15*), cáncer de mama (*MCF-7*), cáncer de pulmón (*SKLU-1*), con un porcentaje de inhibición que va desde el 72.3 hasta el 94.5%, y además no distingue entre las células cancerosas y las células sanas ya que inhibe el crecimiento también de células sanas, como son los fibroblastos humanos sanos (*FGH*).

En la tabla 3, se pueden observar los resultados obtenidos en las pruebas de citotoxicidad. Para el caso de los conjugados **18** y **19** (conjugados de primera generación) se observa que poseen una mayor actividad y presentan una mayor selectividad en la inhibición de crecimiento de las células en la línea de la leucemia (*K562*).

El conjugado **18**, posee un núcleo con cuatro grupos aromáticos en la parte inferior de su estructura; presenta baja citotoxicidad en las líneas celulares de glía de sistema nervioso central (*U251*), colon (*HCT-15*) y de cáncer de pulmón (*SKLU-1*), por otra parte, presenta un porcentaje de inhibición de crecimiento muy similar al del clorambucilo libre para las líneas de cáncer de próstata (*PC-3*) y mama (*MCF-7*), y un mayor porcentaje de inhibición en las células con cáncer de leucemia (*K562*) que el clorambucilo libre 68.9 contra 55.3%.

El conjugado **19** tiene cuatro cadenas alifáticas en la parte inferior de su estructura, posee un porcentaje de inhibición bajo en las líneas celulares de glía de sistema nervioso central (*U251*) y colon (*HCT-15*) del 10.0 y 30.5%; por otra parte, presenta un mayor porcentaje de inhibición de crecimiento en las células con cáncer de leucemia (*K562*). Mientras que para la línea celular de cáncer de próstata (*PC-3*) es más activo que el clorambucilo con un porcentaje de inhibición del 44.9%.

Por otra parte, los conjugados de segunda generación **20** y **21** poseen una mayor actividad y presentan una mayor selectividad en la inhibición de crecimiento de las células en la línea de la leucemia (*K562*).

El conjugado **20**, tiene un núcleo con cuatro grupos aromáticos en la parte inferior de su estructura presenta un porcentaje de inhibición bajo en las líneas celulares de cáncer de colon (*HCT-15*), próstata (*PC-3*), mama (*MCF-7*), y la de cáncer de pulmón (*SKLU-1*), además presenta un porcentaje de inhibición de crecimiento similar al del clorambucilo libre en la línea de cáncer de próstata (*PC-3*), y un mayor porcentaje de inhibición en las células con cáncer de leucemia (*K562*) en comparación con clorambucilo libre 88.6 contra 55.3%.

El conjugado **21**, posee cuatro cadenas alifáticas en el núcleo su estructura, presenta un mayor porcentaje de inhibición de crecimiento en las células con cáncer de leucemia (*K562*) comparado con el clorambucilo libre, 85.7% contra 55.3%. Mientras que para la línea celular de cáncer de próstata (*PC-3*) es más activo que el clorambucilo con un porcentaje de inhibición del 65.3%.

Ahora bien, comparando los compuestos **18** y **20**, los cuales poseen un núcleo con cuatro grupos aromáticos en la parte inferior de su estructura. En las líneas celulares de cáncer de próstata (*PC-3*) tanto el compuesto **18** como el **20** poseen un porcentaje de inhibición similar al del clorambucilo libre. En la línea celular de glía de sistema nervioso central (*U251*) el compuesto **18** y **20** presentan un porcentaje de inhibición similar entre sí, sin embargo, el porcentaje de inhibición de los conjugados en la línea del sistema nervioso central (*U251*) disminuyeron con respecto al del clorambucilo libre. Por otra parte, en las líneas celulares de cáncer de colon (*HCT-15*), cáncer de mama (*MCF-7*), y la de cáncer de pulmón (*SKLU-1*) disminuyó el porcentaje de inhibición del compuesto **20** con respecto al **18**. Finalmente, en la línea celular de cáncer de leucemia (*K562*) el compuesto **20** (conjugado de segunda generación) presenta una mayor actividad que el compuesto **18**.

Por otra parte, para el caso de los compuestos **19** y **21**, los cuales poseen un núcleo con cuatro cadenas alifáticas en la parte inferior de su estructura; en la tabla 3 se puede observar que en las líneas celulares de glía de sistema nervioso central (*U251*), colon (*HCT-15*), cáncer de pulmón (*SKLU-1*), y cáncer de mama (*MCF-7*), los compuestos presentan un menor porcentaje de inhibición en comparación con el clorambucilo libre. En la línea de cáncer de próstata (*PC-3*) y la línea celular de cáncer de leucemia (*K562*) los compuestos **19** y **21** presentan un mayor porcentaje de inhibición en comparación con el clorambucilo libre.

Además, los conjugados **18**, **19**, **20** y **21** fueron probados en fibroblastos gingivales humanos sanos (*FGH*), se puede observar la tabla 3 que no afectan de manera significativa a las células sanas, puesto que inhiben alrededor del 20%, en comparación con el clorambucilo libre, el cual inhibe en un 80% el crecimiento de las células sanas.

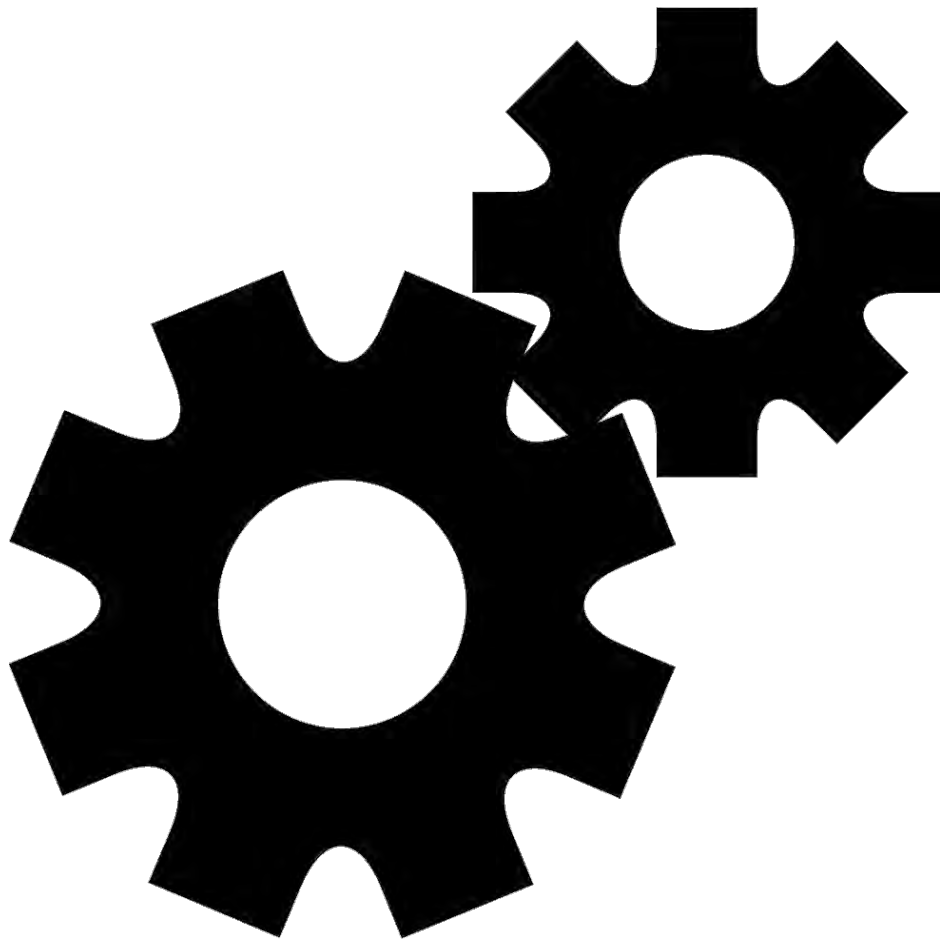
Comparando los resultados de los conjugados de primera generación (**18** y **19**), con los de segunda generación (**20** y **21**), los compuestos de segunda generación **20** y **21** son más activos en comparación con los de primera generación en la línea celular contra el cáncer de la leucemia (*K562*), debido a que probablemente los conjugados de segunda generación poseen un mayor número de moléculas de clorambucilo en la periferia de los resorcinaren-dendrimeros.

Con base en los resultados obtenidos y presentados en la tabla 3 sobre la actividad anticancerígena de los conjugados **18**, **19**, **20** y **21** se puede concluir que; los conjugados **18**, **19**, **20** y **21** al tener un mayor número de moléculas de clorambucilo son más activos y selectivos contra el cáncer de leucemia (*K562*) en comparación con el clorambucilo libre. Y comparando los conjugados de primera (**18** y **19**) y segunda generación (**20** y **21**), los de segunda generación (**20** y **21**) son más activos. Además, los conjugados que poseen cuatro anillos aromáticos como núcleo (**18** y **20**), son más selectivos. Es posible recomendar el uso del conjugado **20** como



una alternativa para tratamiento contra el cáncer de leucemia, puesto que es el más selectivo y más activo de todos los conjugados.

# Capítulo 8



## Conclusiones

## 8. Conclusiones

- Se sintetizaron los resorcinarenos (**4** y **5**); utilizando dos diferentes aldehídos, el hidrocinalmaldehído (**2**) y el dodecanaldehído (**3**).
- Con base en los espectros de RMN de  $^1\text{H}$  y  $^{13}\text{C}$ , se determinó que los resorcinarenos poseen una conformación de corona.
- Se sintetizaron vía divergente los resorcinaren-dendrimeros tipo PAMAM de primera (**10** y **11**) y segunda generación (**15** y **16**).
- Con base en los resultados de espectrometría de masas MALDI-TOF y Electro spray (ESI), se confirmó que se obtuvieron los resorcinaren-dendrimeros de 1<sup>a</sup> y 2<sup>a</sup> generación, los resorcinaren-dendrimeros poseen ocho aminas y 16 grupos aminas como grupos terminales, respectivamente.
- Con base en los RMN  $^1\text{H}$  y  $^{13}\text{C}$  de los resorcinaren-dendrimeros de 1<sup>a</sup> y 2<sup>a</sup> generación, se puede concluir que conservan la conformación de corona.
- Se obtuvieron los conjugados del clorambucilo de 1<sup>a</sup> y 2<sup>a</sup> generación. Esto se confirmó por RMN de  $^1\text{H}$  y  $^{13}\text{C}$ .
- Con base en los resultados de espectrometría de masas MALDI-TOF, se confirmó que se obtuvieron los resorcinaren-dendrimeros conjugados de clorambucilo de 1<sup>a</sup> y 2<sup>a</sup> generación, los cuales poseen ocho y 16 moléculas de clorambucilos en la periferia de su estructura, respectivamente.
- Se realizaron las pruebas de citotoxicidad por el método de sulforodamina B para los conjugados **18**, **19**, **20** y **21**.
- Se realizó la comparación en la actividad anticancerígena de los conjugados **18**, **19**, **20**, **21** y el clorambucilo a la misma concentración, o con el mismo número de moléculas, resultando ser los conjugados **18**, **19**, **20** y **21** más activos en comparación con el clorambucilo libre en la línea celular de la leucemia (*K562*).
- Los conjugados fueron probados en fibroblastos gingivales humanos sanos (*FGH*), resultando que no afectan de manera significativa a las células sanas, en comparación con el clorambucilo libre.

- Los conjugados segunda generación (**20** y **21**) son más activos en comparación de los de primera generación (**18** y **19**) en la línea celular de la leucemia (K562).
- Los conjugados que poseen cuatro anillos aromáticos en el núcleo (**18** y **20**), son más selectivos en comparación con el clorambucilo libre.
- Se puede concluir que el conjugado **20** puede ser recomendado como una alternativa para el tratamiento contra la leucemia.
- Los resorcinaren-dendrimeros tipo PAMAM conjugados con clorambucilo (**18**, **19**, **20** y **21**) resultan ser unos compuestos nuevos. Conjugado al clorambucilo con los resorcinaren-dendrimeros tipo PAMAM puede ser una alternativa para el tratamiento contra la leucemia.

# Capítulo 9



Bibliografía

## 9. Bibliografía

1. INFOCANCER, **2014**, Recuperado de <http://www.infocancer.org.mx/acerca-del-cancer-con2i0.html>
2. Instituto Nacional del Cáncer, **2017**, <https://www.cancer.gov/espanol/cancer/naturaleza/que-es>
3. Lakew M.S., *RSC Adv.*, **2016**, 6, 63761 –63772.
4. Subramanian A.P., Jaganathan S.K., Pandiaraj K.N., Gomathi N., Supriyanto E., *RSC Adv.*, **2016**, 6, 48294-48314.
5. INFOCANCER, **2014**, Recuperado de <http://www.infocancer.org.mx/tratamientos-con454i0.html>
6. Instituto Nacional del Cáncer, **2017**, Recuperado de <https://www.cancer.gov/espanol/tipos/leucemia>
7. Morales C., Torres V., Valencia J.E., Ribón G., Manrique R.D., *Rev CES Med.*, **2010**, 24(1), 97-108.
8. Lozano J.A., *OFFARM*, **2002**, 21(6), 117-122.
9. Chávez-González M.A., Ayala-Sánchez M., Mayani H., *Revista de Investigación Clínica*, **2009**, 61(3), 221, 222.
10. Hurtado-Monroy R., Vargas-Viveros P., Candelaria M., Cervera E., Cruz J., Gutierrez O., Labardini J., *Clinical Leukemia*, **2008**, 2 (2), 128-132.
11. American Chemical Society, **2018**, <https://www.cancer.org/es/cancer/leucemia-en-ninos/causas-riesgos-prevencion/que-lo-causa.html>
12. American Chemical Society, **2018**, <https://www.cancer.org/es/cancer/leucemia-linfocitica/cronica/tratamiento/quimioterapia.html>
13. Beyer U., Roth T., Schumacher P., Maier G., Unold A., Frahm A.W., Fiebig H.H., Unger C., Kratz F., *J Med Chem*, **1998**, 41 (15), 2701-2708.
14. Reux B., Weber V., Galmier M.J., Borel M., Madesclaire M., Madelmont J.C., Debiton E., Coudert P., *Bioorg Med Chem*, **2008**, 16, 5004–5020.
15. Goede V., Eichhorst B., Fisher K., Wendtner C.M., Hallek M., *Leukemia & Lymphoma*, **2015**, 56 (6), 1585-1592.

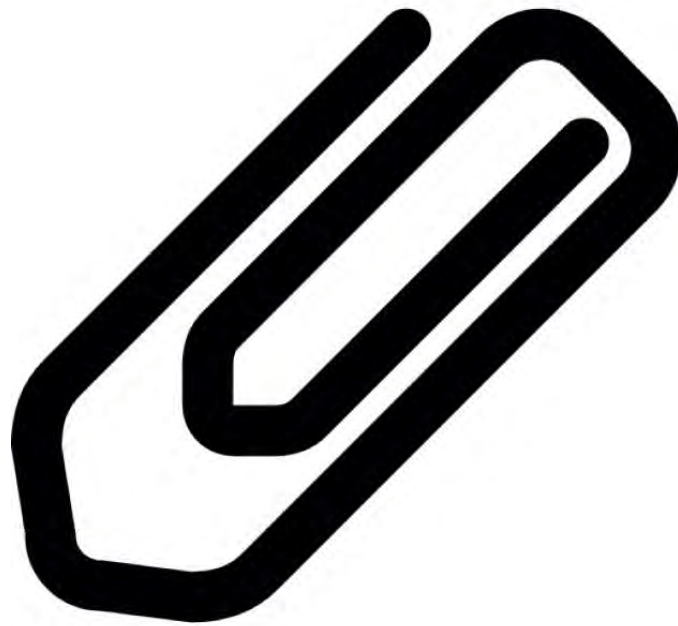
16. Prabhutendolkar A., Liu X, Mathias E.V., Ba Y., Kornfield J.A., *Drug Deliv.*, **2006**, 13, 433-440.
17. Everett J.L., Roberts J.J., Ross W.C.J., *J Chem Soc.*, **1953**, 2386-2392.
18. Godenéche D., Madelmont J.C., Moreau M.F., Plagne R., Meyniel G. *Cancer Chemother. Pharmacol.*, **1980**, 5, 1-9.
19. Reux B., Weber V., Galmier M.J., Borel M., Madesclaire M., Madelmont J.C., Debiton E., Coudert P., *Bioorg Med Chem*, **2008**, 16, 5004–5020.
20. Emadi A., Jones R.J., Brodsky R.A., *Nat. Rev. Clin. Oncol.*, **2009**, 6, 638-647.
21. Palavarapu A., Stillabower J.A., Stubblefield S.G., Taylor W.M., Baik M.H., *J.org. Chem.*, **2012**, 77 (11), 5914-5921.
22. Vardanyan R.S., Hruby V.J., *Synthesis of essential drugs*, Elsevier, **2006**, 396
23. Sriram D., Yogeewari P., *Medical Chemistry*, Pearson Education, **2010**, 561.
24. Mehta G., *J. Chem. Soc., Perkin Trans. I*, **1996**, 2421-242333.
25. Bielowski K., Bielawska A., Muszyńska A., Papłowska B., Czarnomysy R., *environmental toxicology and pharmacology*, **2011**, 32, 364-372.
26. Gutsche C.D., Muthukrishan R., *J Org. Chem.*, **1978**, 43, 4905.
27. Claramunt Vallespí R., Farrán Morales Ma. A., López García C., Pérez Torralba M., Santa María Gutiérrez D., *Química Bioinorgánica y productos naturales*, Madrid, España: Editorial UNED, **2013**.
28. Weiser C., Dieleman D.M., *Coordination Chemistry Review*, **1997**, 165, 93-161.
29. Baeyer, A., *Ber. Dtsch. Chem. Ges.*, **1872**, 5, 280-282.
30. Timmerman P., Verboom W., Reinhoudt D.N., *Tetrahedron*, **1996**, 52 (8), 2663-2704.
31. Niederl J.B., Vogel H.J., *J. Am. Chem. Soc.*, **1940**, 62, 2512-2514.
32. Erdtman H., Högger S., Abrahamsson S., Nilsson B., *Tetrahedron Lett.*, **1968**, 9, 1679.
33. Della S.P., *J. Org. Chem.*, **2016**, 81, 5726–5731.
34. Antesberger J., Cave G.W., Ferrarelli M.C., Heaven M.W., Raston C.L., *Chem. Commun.*, **2005**, 892-894.
35. Hedidi M., Hamdi S.M., Mazari T., Boutermeur B., Rabia C., Chemat F., Hamdi M., *Tetrahedron*, **2006**, 62 (24), 5652-5655.

36. Cortéz- Maya S., Hernández-Ortega S., Ramírez-Apan T., Lijanova I.V., Martínez-García M., *Bioorganic & Medicinal Chemistry*, **2012**, 415-421.
37. Ghareb M.S., Anjali S., Dusica M., Ashok K., *Chem. Commun.*, **2011**, 47, 9572–9587.
38. Sowinska M., Urbanczyk-Lipkowska Z., *New. J. Chem.*, **2014**, 38, 2168-2203.
39. Cheng Y., Zhao L., Li Y., Xu T., *Chem. Soc. Rev.*, **2011**, 40, 2673-2703.
40. Boas U., Heegaard P.M.H., *Chem. Soc. Rev.*, **2004**, 33, 43-63.
41. Buhleier E., Wehner W., Vögtle F., *Synthesis*, **1978**, 155.
42. Tomalia D.A., Beker H., Dewald J., Hall M., Kallos G., Martin S., Roeck J., Ryder J., Smith P., *Polymer Journal*, **1985**, 17 (1), 117-132.
43. Taghavi P. N., Gunfuz U., Mutlu P., *J. Nanopart. Res.*, **2014**, 16, 2342
44. Ghareb M.S., Anjali S., Dusica M., Ashok K., *Chem. Commun.*, **2011**, 47, 9572–9587.
45. Hawker C.J., Frechet J.M.J., *J. Am. Chem. Soc.*, **1900**, 112, 7638-7647.
46. Shewaye L.M., Tilahun A.D., Hsieh-Chih T., *RSC Adv.*, **2016**, 6, 63761-63772.
47. Eun, J.P., Dong H.N., *Journal of Pharmaceutical Investigation*, **2014**, 44, 141–145.
48. Lijanova I.V., Ramirez G.M., Likhanova N.V., Garibay F.V., Olivares X.O.C., *supramolecular chemistry*, **2012**, 24(1), 56-64.
49. Subramanian A.P., Jaganathan S.K., Manikandan A., Pandiaraj K.N., Gomathi N., Supriyanto E., *RSC Adv*, **2016**, 6, 48294.
50. Froehling P.E., *Dyes and Pigments*, **2001**, 48, 187-195.
51. Svenson, S., *Eur. J. Pharm. Biopharm.*, **2009**, 71, 445-462.
52. Hernández Baltazar E., *Revista Mexicana de ciencias farmacéuticas*, **2011**, 42 (3).
53. Devarakonda B., Hill R.A., De Villiers M.M., *Int J Pharm*, **2004**, 284, 133–140.
54. Koc F.E., Senel M., *Int J Pharm*, **2013**, 451, 18–22.
55. Menjoge A.R., Kannan R.M., Tomalia D.A., *Drug Discov Today*, **2010**, 15, 171–185.
56. Jin G.W., Koo H., Nam K., Kim H., Lee S., Park J.S., Lee Y., *Polymer*, **2011**, 52, 339–346.
57. Zhang T.H., Liu C.G., Zhang Z.Q., Ruan J.X., *Arch. Pharm. Res.*, **2011**, 34, 1153–1159.



58. Yang W., Cheng Y., Xu T., Wang X., Wen L.P., *Eur. J. Med. Chem.*, **2009**, 44, 862–868.
59. Hospital los Ángeles, **2017**, Recuperado de [https://www.hospitalesangeles.com/saludyvida/articulo.php?id=5230&llave\\_seccion=4](https://www.hospitalesangeles.com/saludyvida/articulo.php?id=5230&llave_seccion=4)
60. Monks A., Scudiero D., Skehan P., Shoemaker R., Paul K., Vistica, D., Hose C., Langley J., Cronise P., Vaigro-Wolff A., *J. Natl. Cancer Inst.*, **1991**, 83, 757–766.
61. Sharpe A. G., *Química inorgánica*, Reverte, 2ª Edición, **1996**, 136-139.
62. Introducción a la teoría de grupo de simetría, **2010**, Recuperado de [http://www.uco.es/organiza/departamentos/quimica-fisica/quimicafisica/QuiFis/L12\\_QF\\_10\\_11.pdf](http://www.uco.es/organiza/departamentos/quimica-fisica/quimicafisica/QuiFis/L12_QF_10_11.pdf)
63. Introducción a la teoría de grupos de simetría, **2018**, Recuperado de [http://www3.uah.es/edejesus/resumenes/DECI/tema\\_1.pdf](http://www3.uah.es/edejesus/resumenes/DECI/tema_1.pdf)

# Capítulo 10



Anexo

## 10. Anexo

### Simetría molecular<sup>61,62,63</sup>

Una *operación de simetría* es una operación o movimiento que es indistinguible a la original. Asociada a cada operación, hay un *elemento de simetría*, el cual es el punto, línea o plano respecto del cual se realiza la operación de simetría.

#### Operaciones y elementos de simetría

**Identidad (*i*):** Esta operación deja a la molécula tal cual, es decir, no sufre ningún cambio.

**Rotación propia ( $C_n$ ):** Existe un eje propio de orden  $n$ , cuando al girar la molécula  $360^\circ/n$  la molécula no cambia.

**Plano de simetría:** el elemento de simetría es un plano especular. Y la operación de simetría es una reflexión a través de dicho plano.

Existen 3 tipos de plano de simetría:

$\sigma_h$ : Es horizontal respecto al eje principal de rotación de la molécula, es decir, el de mayor  $n$ .

$\sigma_v$ : Es vertical respecto al eje principal de rotación de la molécula, es decir, el de mayor  $n$ .

$\sigma_d$ : Se encuentra a un ángulo respecto al eje principal de la molécula.

**Eje impropio ( $S_n$ ):** Requiere de dos operaciones de simetría. Consiste en una rotación respecto al eje seguida de una reflexión en el plano perpendicular al eje de rotación. Cuando se aplica en secuencia se obtiene una configuración indistinguible de la molécula.

**Grupo puntual:** Conjunto de elementos de simetría de una molécula. Los elementos que posee una molécula determinan el grupo puntual al que pertenece. Por ejemplo:  $C_2$ ,  $C_4$ ,  $C_{2v}$ ,  $D_{3h}$ ,  $O_h$ ,  $T_d$ , etc.

**$C_1$ :** Su único elemento de simetría es la identidad.

**$C_s$ :** Solo tiene un plano de simetría.

**$C_i$ :** Solo tiene centro de simetría

**$C_n$ :** Solo tienen eje de rotación de orden  $n$ .

**$S_n$ :** Solo tienen un eje de rotación impropio de orden  $n$ .

**$C_{nv}$ :** Posee un eje  $C_n$  y  $n$  planos verticales  $\sigma_v$ .

**$C_{nh}$ :** Posee un eje  $C_n$  y un plano horizontal  $\sigma_h$ .

**$D_n$ :** Posee un eje principal de orden  $n$ , y  $n$  ejes binarios perpendiculares al anterior.

**$D_{nh}$ :** Como en el caso anterior, más un plano horizontal  $\sigma_h$ .

**$D_{nd}$ :** Como en el caso  $D_n$  más  $n$  planos diedros  $\sigma_d$ .

**$T$ ,  $T_h$ ,  $T_d$ :** Moléculas con estructura tetraédrica. Los tetraedros regulares  $T_d$  son designados como, mientras que los irregulares se designan por  $T$  o  $T_h$ .

**$O$ ,  $O_h$ :** Moléculas con estructura octaédrica. Los tetraedros regulares  $O_h$  son designados como, mientras que los irregulares se designan por  $O$ .

Para el caso particular de las conformaciones de los resorcinarenos, presentadas en la página 21.

**Silla ( $C_{2h}$ ):** Posee un eje  $C_2$  y un plano horizontal  $\sigma_h$ .

**Bote ( $C_{4v}$ ):** Posee un eje  $C_2$  y dos planos verticales  $\sigma_v$ .

**Corona ( $C_{4v}$ ):** Posee un eje  $C_4$  y cuatro planos verticales  $\sigma_v$ .

**Diamante ( $C_s$ ):** Solo tiene un plano de simetría.

**Silla de montar ( $D_{2d}$ ):** Posee un eje principal de orden dos y dos ejes binarios perpendiculares al eje principal.