



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MEXICO

PROGRAMA DE MAESTRÍA Y DOCTORADO EN CIENCIAS QUÍMICAS

SÍNTESIS DE CONJUGADOS DENDRIMÉRICOS TIPO PAMAM

TESIS

PARA OPTAR POR EL GRADO DE
MAESTRO EN CIENCIAS

PRESENTA

Q. Ulises Organista Mateos

Dr. Marcos Martínez García

Instituto de Química

Ciudad Universitaria Cd. Mx., Noviembre 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: M. en C. José Manuel Méndez Stivalet

VOCAL: Dr. José Federico del Río Portilla

VOCAL: Dra. Carolina Godoy Alcántar

VOCAL: Dr. José Gustavo Ávila Zárraga

SECRETARIO: Dr. Marcos Hernández Rodríguez

SITIO DONDE SE DESARROLLÓ EL TEMA:

LABORATORIO 6-C, INSTITUTO DE QUÍMICA, UNAM

ASESOR DEL TEMA:

Dr. Marcos Martínez García

SUSTENTANTE:

Q. Ulises Organista Mateos

AGRADECIMIENTOS

Al Dr. Marcos Martínez García por dejarme integrar a su grupo de trabajo hace 7 años, así como su apoyo, conocimientos y asesoría otorgados a lo largo de este trabajo.

Al M. en C. José Manuel Méndez Stivalet, al Dr. Federico del Río Portilla, al Dr. Marcos Hernández Rodríguez, al Dr. José Gustavo Ávila Zárraga y a la Dra. Carolina Godoy Alcántar por sus comentarios y observaciones hechas en la revisión de este trabajo.

A la Dra. Sandra Cortes Maya por su ayuda, valiosas aportaciones y consejos.

Al Proyecto PAPIIT IN101117 (DGAPA-UNAM) por el apoyo financiero otorgado para la realización del presente proyecto.

Al CONACYT por la beca otorgada para realización, desarrollo y conclusión del presente trabajo. (No. De becario: 603754)

Al Instituto de Química por las facilidades otorgadas para la realización de este trabajo. De igual manera al personal técnico:

- M. en C. Elizabeth Huerta Salazar.
- Q. María de los Ángeles Peña.
- Dra. Beatriz Quiroz García.
- M. en C. Héctor Ríos Olivares.
- Dra. Nuria Esturau Escofet.
- Q. F. B. María del Rocío Patiño Maya.
- M. en C. Lucía del Carmen Márquez Alonso.
- M. en C. Lucero Ríos Ruiz.
- Ing. Q. Luis Velazco Ibarra.
- Q. María de la Paz Orta Pérez.

TABLA DE CONTENIDO

Abreviaturas	1
Introducción	5
Antecedentes	7
1. Dendrímeros.....	8
1.1. Historia de los dendrímeros	8
1.2. Tipos de dendrímeros	11
1.2.1. Dendrímeros tipo cascada.....	12
1.2.2. Dendrímeros tipo arborescentes	12
1.2.3. Dendrímeros tipo Fréchet.....	14
1.2.4. Dendrímeros tipo PAMAM.....	16
1.3. Estructura de los dendrímeros	17
1.4. Métodos de síntesis de dendrímeros	19
1.4.1. Método Divergente	20
1.4.2. Método Convergente	21
1.4.3. Aproximación por reactividad mixta.....	22
1.4.4. Crecimiento convergente en etapa doble	23
1.4.5. Método de crecimiento doble exponencial	24
1.4.6. Método de aproximación por monómero ramificado	25
1.4.7. Método de acoplamiento ortogonal	26
1.5. Aplicaciones de los dendrímeros	30
1.5.1. Dendrímeros funcionales en capas delgadas.....	30
1.5.2. Dendrímeros como catalizadores	32
1.5.3. Química Huésped-Hospedero en dendrímeros	33
1.6. Dendrímeros como acarreadores de fármacos.....	34
2. Antiinflamatorios no esteroideos (AINE's)	36
2.1. Clasificación de los AINE's	37
2.2. Uso de AINE's en terapia anticancerígena	38
2.3. Conjugados dendriméricos con AINE's para quimioterapia	39
3. Naproxeno	44
3.1. Aplicaciones del Naproxeno	44

Objetivos	46
1. Objetivo General.....	47
2. Objetivos Particulares.....	47
Equipo, Reactivos y Disolventes usados	48
Desarrollo Experimental	51
1. Síntesis de los dendrones	52
1.1. Síntesis del dendrón G0.5 de propargilamina	52
1.2. Síntesis del dendrón G1.0 de propargilamina	53
1.3. Síntesis del dendrón G1.5 de propargilamina	54
1.4. Síntesis del dendrón G2.0 de propargilamina	55
1.5. Síntesis del dendrón G0.5 de etanolamina	56
1.6. Síntesis del dendrón G1.0 de etanolamina	57
1.7. Síntesis del dendrón G1.5 de etanolamina	58
1.8. Síntesis del dendrón G2.0 de etanolamina	59
2. Síntesis de los conjugados dendriméricos con naproxeno	61
2.1. Formación del cloruro de ácido del naproxeno	61
2.2. Síntesis del conjugado dendrimérico G1.0 de propargilamina con NPX.....	62
2.3. Síntesis del conjugado dendrimérico G2.0 de propargilamina con NPX	63
2.4. Síntesis del conjugado dendrimérico G1.0 de etanolamina con NPX	65
2.5. Síntesis del conjugado dendrimérico G2.0 de etanolamina con NPX	66
Discusión de Resultados	69
1. Síntesis de los dendrones	70
1.1. Síntesis del dendrón G0.5 de propargilamina (Reacción de adición de Michael)	70
1.1.1. Mecanismo de reacción de adición de Michael	72
1.2. Síntesis del dendrón G1.0 de propargilamina (Reacción de aminólisis)	73
1.2.1. Mecanismo de reacción de aminólisis	75
1.3. Síntesis del dendrón G1.5 de propargilamina (Reacción de adición de Michael)	76
1.4. Síntesis del dendrón G2.0 de propargilamina (Reacción de aminólisis)	78
1.5. Síntesis del dendrón G0.5 de etanolamina (Reacción de adición de Michael)	82
1.6. Síntesis del dendrón G1.0 de etanolamina (Reacción de aminólisis)	84

1.7.	Síntesis del dendrón G1.5 de etanolamina (Reacción de adición de Michael)	86
1.8.	Síntesis del dendrón G2.0 de etanolamina (Reacción de aminólisis)	88
2.	Síntesis de los conjugados dendriméricos con naproxeno	93
2.1.	Extracción del naproxeno	93
2.2.	Formación del cloruro de ácido del naproxeno (Reacción de formación de cloruro de ácido)	96
2.2.1.	Mecanismo de reacción de formación del cloruro de ácido	98
2.3.	Síntesis del conjugado dendrimérico G1.0 de propargilamina con naproxeno (Formación de amida)	99
2.3.1.	Mecanismo de reacción de formación de amida	102
2.4.	Síntesis del conjugado dendrimérico G2.0 de propargilamina con naproxeno (Formación de amida)	103
2.5.	Síntesis del conjugado dendrimérico G1.0 de etanolamina con naproxeno (Formación de amida y éster)	107
2.6.	Síntesis del conjugado dendrimérico G2.0 de etanolamina con naproxeno (Formación de amida y éster)	110
3.1.	Pruebas de actividad biológica de los conjugados dendriméricos	114
3.1.1.	Ensayos de citotoxicidad en células cancerígenas humanas	114
	Conclusiones	118
	Referencias	121

Abreviaturas

°C: Grado Celsius

A.E.: Análisis Elemental

ADN: Ácido desoxirribonucleico

AINE: Antiinflamatorio no esteroideo

Ar: Aromático

Ar_{ipso}: Carbono aromático *ipso*

c: cuadruplete

CCF: Cromatografía en Capa Fina

CDCl₃: Cloroformo deuterado

C_{ipso}: Carbono *ipso*

cm⁻¹: Unidades de número de onda

COX: Enzima Ciclooxygenasa

COX-1: Enzima Ciclooxygenasa-1

COX-2: Enzima Ciclooxygenasa-2

C_α: Carbono alfa

C_β: Carbono beta

d: Doblete

DMF: N,N-Dimetilformamida

EN: Etilendiamina

Et₃N: Trietilamina

eV: electrón-Volt

FAB⁺: Bombardeo de átomos rápidos

FT-IR: Infrarrojo por transformada de Fourier

g: Gramo

G1.0: Primera Generación

G2.0: Segunda Generación

GEA: Grupo electroattractor

h: Horas

HDPE: Polietileno de alta densidad (*High Density PoliEtilene*)

HSQC: Espectroscopía Heteronuclear simple por coherencia cuántica (*Heteronuclear Single Quantum Coherence spectroscopy*)

Hz: Hertz

IE: Impacto Electrónico

J: Constante de acoplamiento

LDPE: Polietileno de baja densidad (*Low Density PoliEtilene*)

m/z: Relación masa-carga

m: multiplete

MALDI-TOF: Ionización/desorción láser asistida por matriz y tiempo de vuelo (*Matrix Assisted Laser Desorption/Ionization-Time of Flight*)

MHz: Mega Hertz

mL: Mililitro

μ M: Micromolar

mmol: Milimol

MS: Espectrometría de masas

nm: Nanómetro

OLED: Led Orgánico Emisor de Luz (*Organic Light-Emitting Diode*)

P. E.: Punto de ebullición

P. F.: Punto de fusión

PAMAM: Poliamidoamina

PPI: Polipropilenimida

ppm: Partes por millón

PPV: Polifenilvinileno

RMN ^{13}C : Resonancia Magnética Nuclear de Carbono 13

RMN ^1H : Resonancia Magnética Nuclear de Hidrógeno

SA: Señal Ancha

T. A.: Temperatura Ambiente

t: Triplete

δ_{C} : Desplazamiento químico de carbono 13 en ppm

δ_{H} : Desplazamiento químico de hidrógeno en ppm

λ : Longitud de onda

INTRODUCCIÓN

Los acarreadores de fármacos son un campo de estudio muy amplio dentro de la quimioterapia para el tratamiento de enfermedades crónico-degenerativas y más específicamente contra el cáncer. El uso de fármacos altamente agresivos e inespecíficos en la quimioterapia hace que se requieran formas novedosas para llevar el fármaco a la zona u órgano dónde es requerida sin que éste interactúe con tejido y órganos sanos. Partiendo de esto, se entiende la necesidad de los acarreadores de fármacos.

Desde finales del siglo pasado se han ideado varios tipos de acarreadores de fármacos como los liposomas o polímeros de bajo peso molecular. Sin embargo, dentro del uso de los polímeros, comenzó a crecer el uso de dendrímeros dentro de estas aplicaciones. El uso de dendrímeros como acarreadores de fármacos ha tenido como consecuencia el aumento de la eficacia farmacológica de los anticancerígenos y la disminución de efectos colaterales debido al fármaco en su forma libre.

Dentro de los dendrímeros usados para el acarreo de fármacos están los dendrímeros tipo PAMAM ya que sus características fisicoquímicas permiten la obtención de varios tipos de acarreadores de fármacos con una amplia variedad de fármacos con la ventaja de ser poco citotóxicos a bajas concentraciones.

Por otro lado, en años recientes se ha descubierto que los antiinflamatorios no esteroideos son excelentes candidatos para su uso como anticancerígenos, esto debido a su mecanismo de acción sobre las enzimas COX.

Por todo esto, es que en el presente trabajo se decidió realizar la síntesis de conjugados dendriméricos tipo PAMAM con naproxeno para su posible aplicación como acarreadores de fármacos.

ANTECEDENTES

1. Dendrímeros

Los dendrímeros son polímeros globulares altamente ramificados. El nombre de dichas moléculas proviene de la raíz griega “δενδρον” (dendrón) que significa rama o árbol. La estructura dendrítica tiene una de las topologías más atractivas en el mundo ya que dicha estructura puede ser encontrada en sistemas tanto bióticos como abióticos. Algunos ejemplos de sistemas abióticos son: Relámpagos y los patrones dejados por éstos, afluentes acuáticos y copos de nieve¹. Ejemplos de sistemas bióticos son: Árboles, raíces, sistemas vasculares, redes neuronales². (Figura 1).

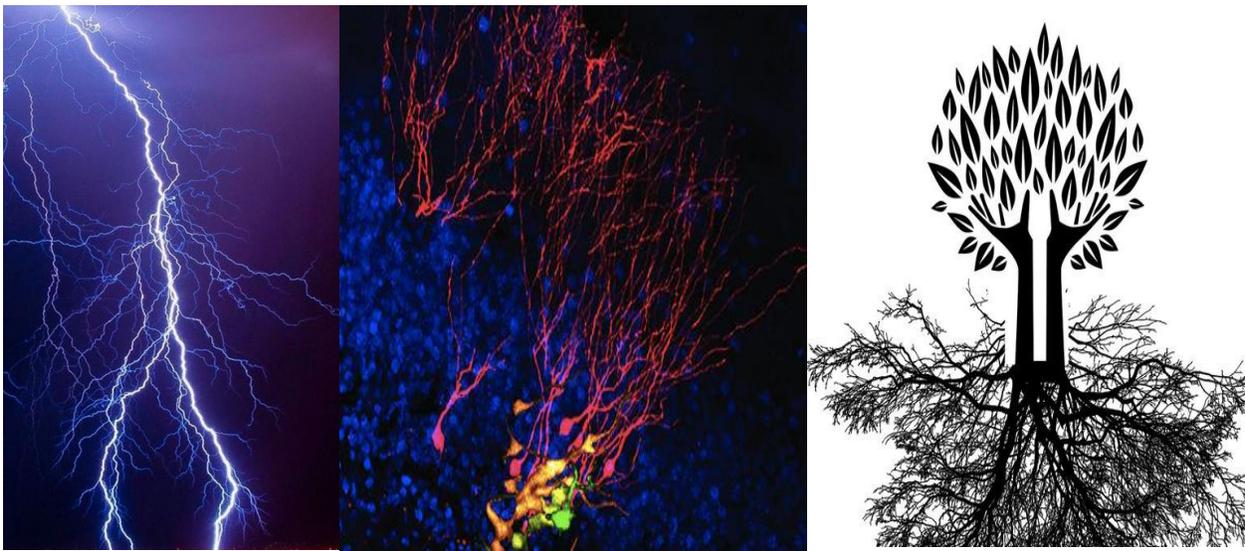


Figura 1. Ejemplos de estructuras dendríticas en diferentes sistemas naturales.

1.1. Historia de los dendrímeros

El proceso de síntesis de macromoléculas con estructura ramificada puede dividirse en tres etapas: La primera puede establecerse aproximadamente desde 1860 hasta inicios de 1940. Esto debido a que las macroestructuras se consideraban las responsables de la insolubilidad y difícil manipulación de los productos obtenidos de procesos de polimerización; aunado a esto, los métodos de purificación no estaban

diseñados para este tipo de moléculas y las técnicas de caracterización eran primitivas. Durante la segunda guerra mundial se incrementó la demanda de insumos materiales, derivando en la necesidad de substituir los materiales naturales por sintéticos³.

A partir de los años 40's y hasta la década de los 70's se comprende el segundo periodo. Donde la estructura ramificada fue concebida desde un punto de vista clásico que está basado en reacciones simples de polimerización entre monómeros diferenciados. Sin embargo, la imposibilidad en controlar el crecimiento y la obtención de pesos molares definidos en los polímeros hizo que dicho acercamiento fuera impráctico para el estudio detallado del proceso de ramificación⁴.

Finalmente, entre los años 70's y 80's se inició exitosamente el proceso de ensamble molecular basado en una metodología iterativa, la cual fue el punto de partida de la química dendrítica. Derivado de este nuevo método, se propone dar mayor prioridad al control del crecimiento que al ensamblaje mismo. Los avances en métodos de separación y purificación, así como la introducción de métodos de caracterización espectroscópica permitieron alcanzar la sofisticación necesaria para sustentar esta nueva rama de síntesis de macromoléculas con composición determinada usando la precisión sintética tradicional⁴.

Los primeros reportes acerca de conectividad no lineal o polimerización ramificada fueron hechos por Zincke en 1869 y Friedel y Crafts en 1885 con reacciones entre el cloruro de benzoilo y cobre o cloruro de aluminio respectivamente^{3, 5}. En 1922, Ingold y Nickolls reportaron la síntesis de la molécula pequeña ramificada y simétrica: el ácido metanotetraacético (Figura 2)⁶.

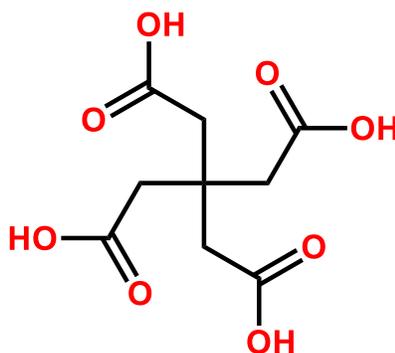
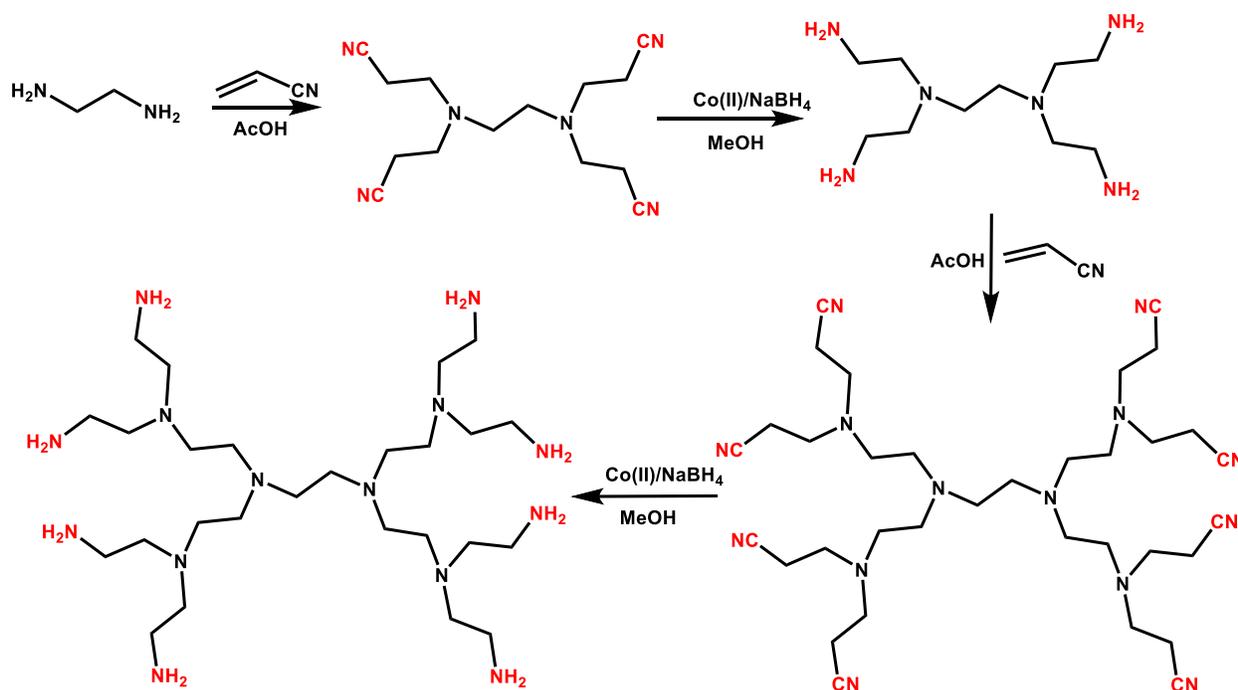


Figura 2. Primera molécula ramificada simétrica; el ácido metanotetraacético.

En 1978, Vogtle es el primero en introducir el concepto de “cascada” que es, el que da como tal lugar a la química de dendrímeros. En dicho trabajo va más allá de una metodología iterativa para la construcción de la molécula pues su metodología se basa en dos pasos iterativos los cuales son: una alquilación y una reducción. El primer dendrímero tipo cascada se hizo por el tratamiento de una diamina con acrilonitrilo obteniendo un tetranitrilo, la cual fue seguida de una reducción para dar una tetraamina, la cual fue seguida por una alquilación dando un octanitrilo con su posterior reducción para dar una octaamina (Esquema 1)^{7, 8}



Esquema 1. Síntesis de un dendrímero tipo cascada con sus dos pasos principales.

A partir de estos primeros trabajos, se empezó a desarrollar una amplia gama de trabajos para crecer dendrímeros con el método de cascada, por ejemplo: Los trabajos de Maciejewski en 1982⁹, De Genes en 1983¹⁰, Tomalia en 1985¹¹, Newkome en 1988¹², Fretchet y Miller en 1990^{13, 14}.

Hoy en día los polímeros dendríticos son reconocidos como una familia dentro de las arquitecturas macromoleculares; de la cual se pueden nombrar 3 subarquitecturas según su grado de control estructural: a) hiperramificación aleatoria, b) dendroinjertos y c) dendrímeros. Las otras tres familias de arquitecturas macromoleculares son: Polímeros lineales como el Nylon, polímeros reticulados como el caucho y polímeros ramificados como el HDPE y LDPE. (Figura 3)¹⁵

Principales Arquitecturas macromoleculares

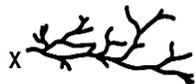
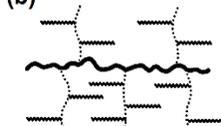
I. Lineal	II. Reticulados	III. Ramificados	IV. Dendríticos		
			(a)  Hiperramificación aleatoria	(b)  Dendroinjertos	(c)  Dendrímeros
Nylon	Caucho	LDPE y HDPE			

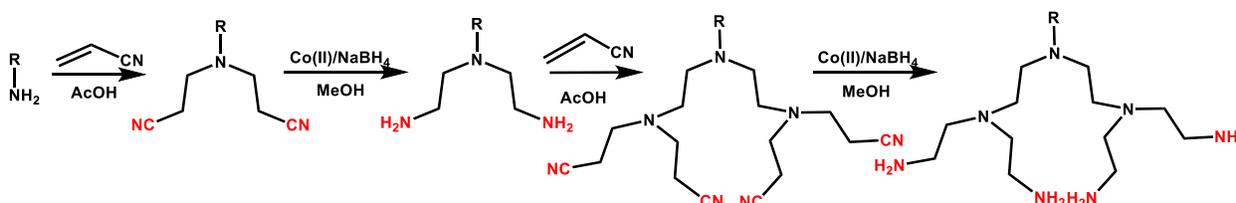
Figura 3. Arquitecturas Macromoleculares y ejemplos.

1.2. Tipos de Dendrímeros

Hasta el día de hoy se han sintetizado una amplia variedad de dendrímeros usando como monómeros moléculas con diferentes grupos funcionales. Algunos ejemplos de los tipos de dendrímeros desarrollados hasta ahora son: poliamidas¹³, poliaminas¹⁴, poliaramidas¹⁶, poliésteres¹⁷, poliésteres-amidas¹⁸, poliéteres¹⁹, poliétercetonas²⁰, sulfuros de polifenilenos²¹, polisiloxanos²², poliuretanos²³ y polímeros líquido-cristalinos²⁴. Sin embargo, históricamente algunos tienen mayor relevancia que otros.

1.2.1. Dendrímeros tipo cascada

Como ya se comentó anteriormente, Vogtle fue el primero en introducir el concepto de dendrímeros cascada, cuya síntesis consiste en una secuencia repetida de reacciones donde el grupo funcional es capaz de reaccionar de tal forma que aparezca el mismo grupo funcional, pero en doble cantidad (Esquema 2)⁸.

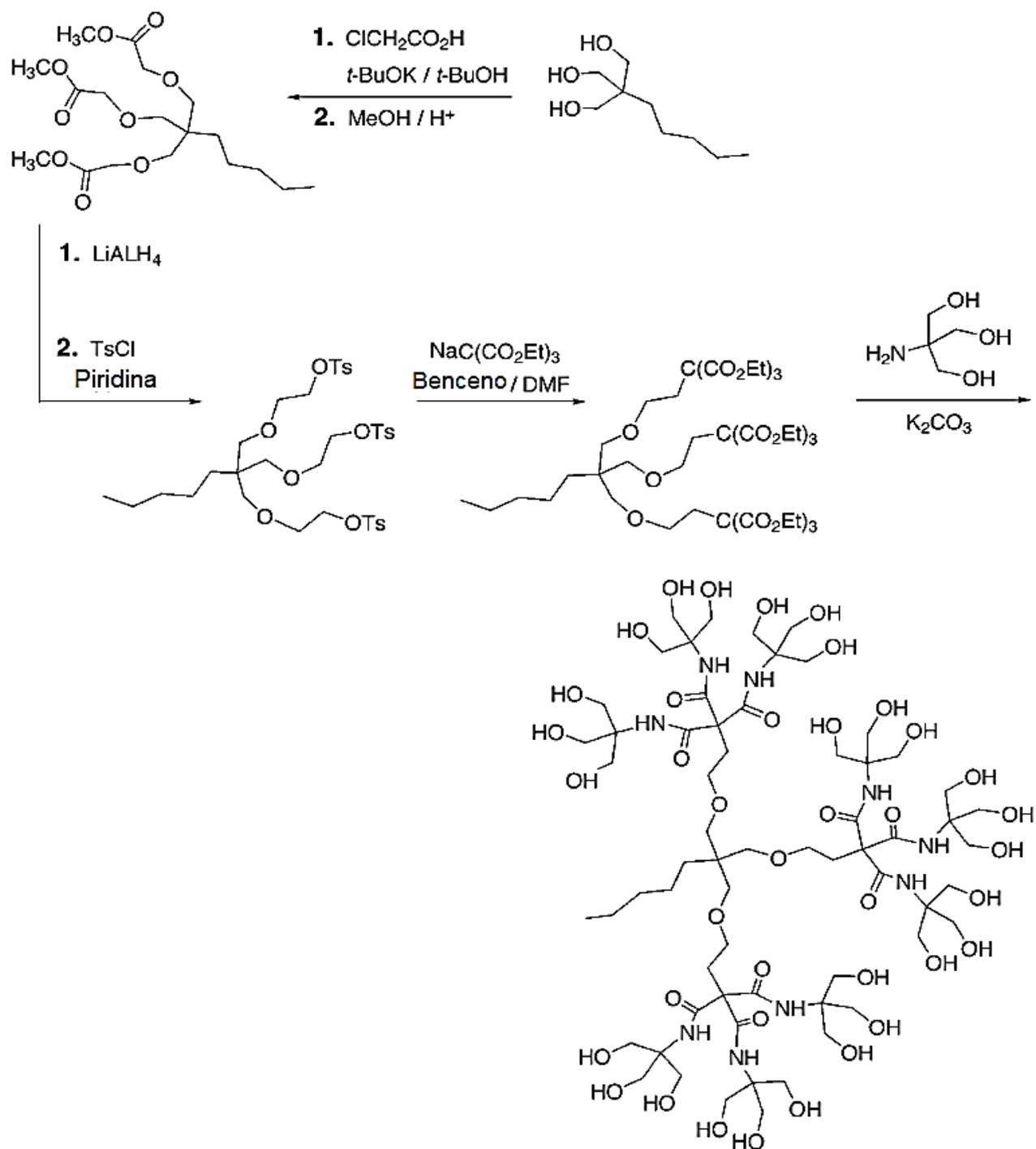


Esquema 2. Síntesis cascada de Vogtle.

1.2.2. Dendrímeros tipo Arboroles

La síntesis de arboroles fue desarrollada por Newkome *et al.* en 1985 en su intento por desarrollar una nueva estructura micelar que poseyera un microambiente tridimensional y con grupos terminales polares en la superficie. Éste modelo de arquitectura está basado en el modelo de Leeuwenberg. Newkome usó un modo de crecimiento divergente (del centro hacia afuera) con un tipo de ramificación AB_3 ²⁵.

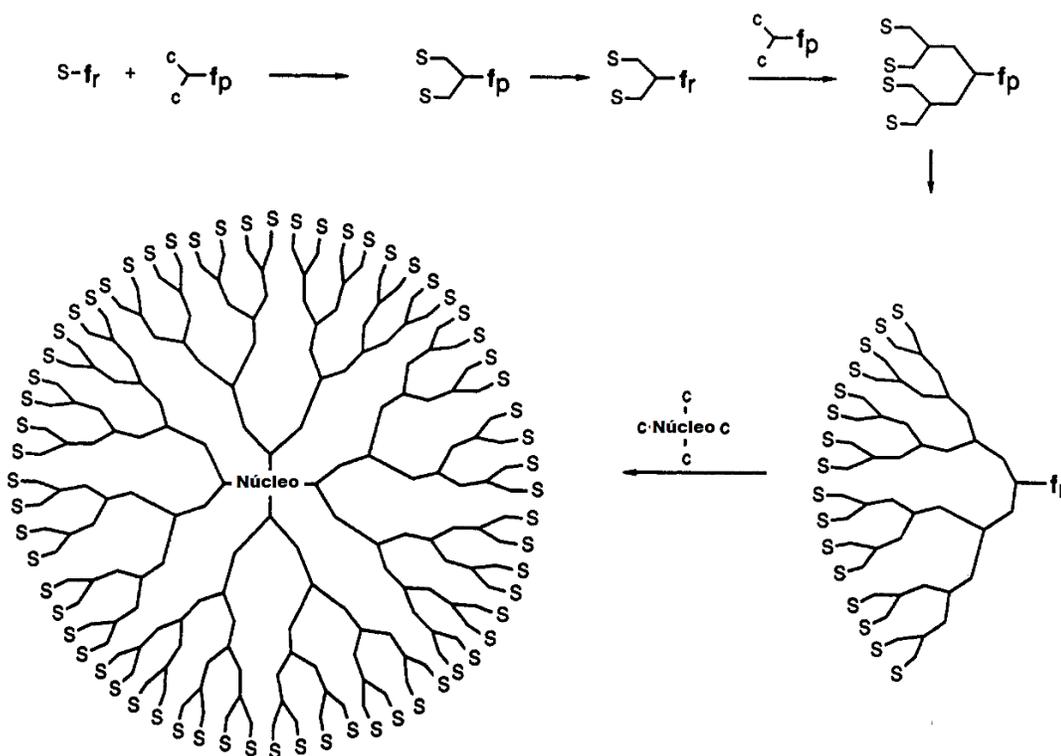
La síntesis inició usando como punto de partida al 1,1,1-tris(hidroximetil)pentano, el cual fue tratado con ácido cloroacético en *t*-butanol y *t*-butóxido de potasio. Posteriormente se agregó metanol para la esterificación de los ácidos. Posteriormente fue reducido con $LiAlH_4$ y se protegió con cloruro de tosilo y finalmente con trietilmetanocarboxilato de sodio. (Esquema 3)²⁵. Newkome llegó hasta la tercera generación del arborol soluble en agua.



Esquema 3. Síntesis de un arborol de Newkome.

1.2.3. Dendrimeros tipo Frètchet

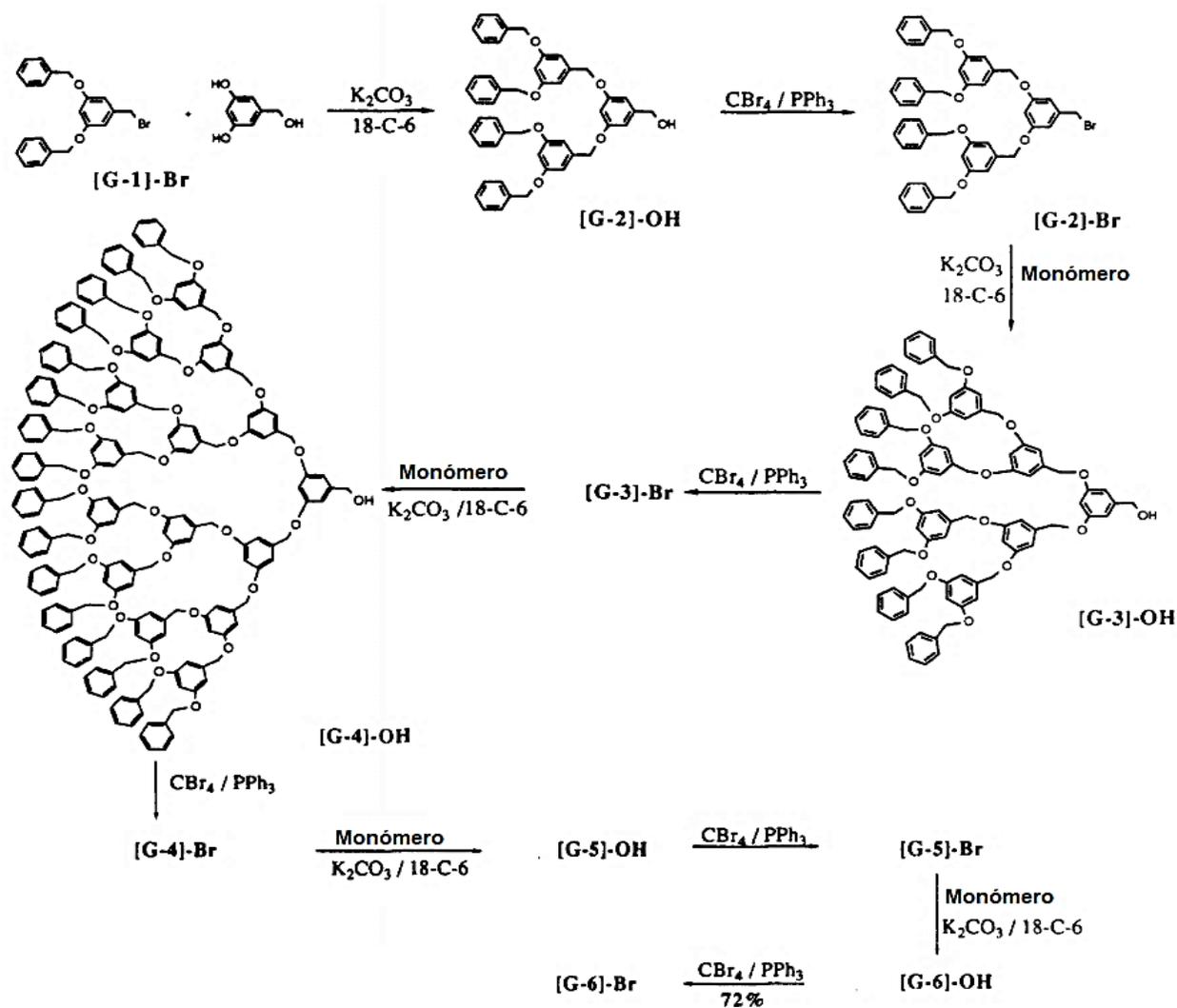
En 1990, Frètchet y col. fueron los primeros en describir la síntesis de un dendrimer pero usando una ruta de síntesis convergente (de fuera hacia dentro), por lo que primero inició con la construcción de la periferia y brazos dendríticos de la molécula, todas estas reacciones estaban limitadas a dos centros reaccionantes (C) del monómero, y en cada etapa de acoplamiento se aumentaba el número de grupos funcionales en la periferia (S), de igual manera se tiene solo un grupo funcional Fp y después de la activación se transforma en un grupo reaccionante fr. Finalmente, este grupo reaccionante fr es empleado para acoplarlo al centro de la molécula. El uso de este tipo de ramificación es un sistema AB₂ (Esquema 4)²⁶.



Esquema 4. Método de síntesis desarrollado por Frètchet.

Un ejemplo de este tipo de reacciones es el reportado por Frètchet²⁶. En el que inició con el acoplamiento de un haluro bencílico al 3,5-dihidroxibencilalcohol, posteriormente se hizo la activación del alcohol transformándolo en el bromuro

correspondiente y su posterior acoplamiento al 3,5-dihidroxibencilalcohol. Se repitieron ambos casos hasta llegar al tamaño deseado y finalmente el dendrón fue acoplado al centro obteniéndose el dendrímero completo. (Esquemas 5)²⁶.



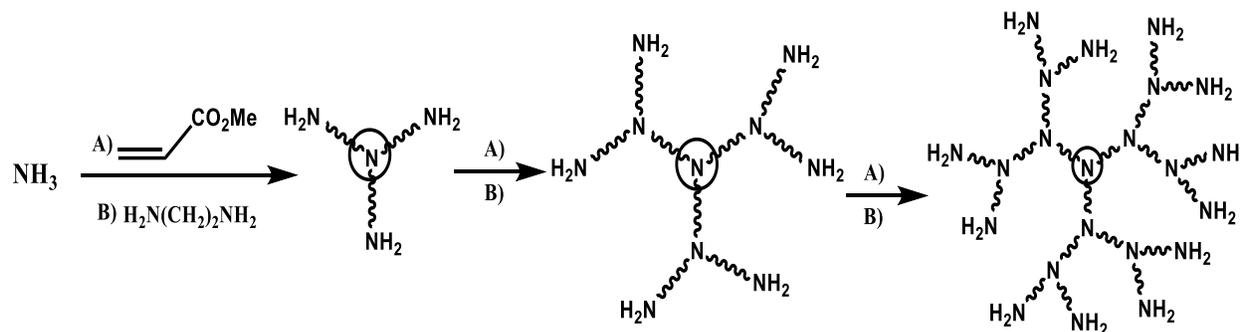
Esquema 5. Ruta de obtención de los dendrones de poliéteres.

1.2.4. Dendrimeros tipo PAMAM

Los intereses de Tomalia con respecto a macromoléculas con simetría radial lo lleva a reportar en 1985 un dendrimeros con arquitectura “starburst”. Tomalia es el primero en dar la primera descripción de cómo es que se conforma un dendrimeros, enlistando: núcleo, capas interiores o generaciones y exterior o grupos terminales. A los dendrimeros starburst también se les llama tipo poliamidoamida (PAMAM).²⁷

Para la obtención de los dendrimeros Starburst usó amoníaco como núcleo del dendrimeros. Acrilato de metilo y etilendiamina para los brazos dendríticos por medio de dos reacciones: Adición exhaustiva de Michael seguido de una aminólisis. Las capas internas o generaciones contienen unidades repetitivas de N-(2-aminoetil)acrilamida. La etapa de la adición de Michael lleva a una generación intermedia por lo que hasta después de la aminólisis es que se obtiene la generación completa (Esquema 6)²⁷.

En ambas etapas de crecimiento de la generación del dendrimeros, se usó un gran exceso de ambos reactivos, esto con el objetivo de que no quedara algún sitio sin reaccionar, pues esto sería un error de crecimiento y no se obtendría el dendrimeros completo²⁷.



Esquema 6. Ruta de síntesis usada por Tomalia para un dendrimeros PAMAM.

1.3. Estructura de los dendrímeros

Los polímeros dendríticos tienen un arreglo simétrico bien definido y cuyo crecimiento es bastante controlado. Todos los dendrímeros pueden verse como dispositivos a nano escala, cada componente de la arquitectura dendrímica tiene una función específica y van definiendo las propiedades de la macromolécula conforme ésta va aumentando de generación. La estructura general de un dendrímero es: Un centro (átomo, molécula ciclo o macrociclo), las ramificaciones, brazos dendríticos o dendrones y al final un grupo funcional (Figura 4)²⁸.

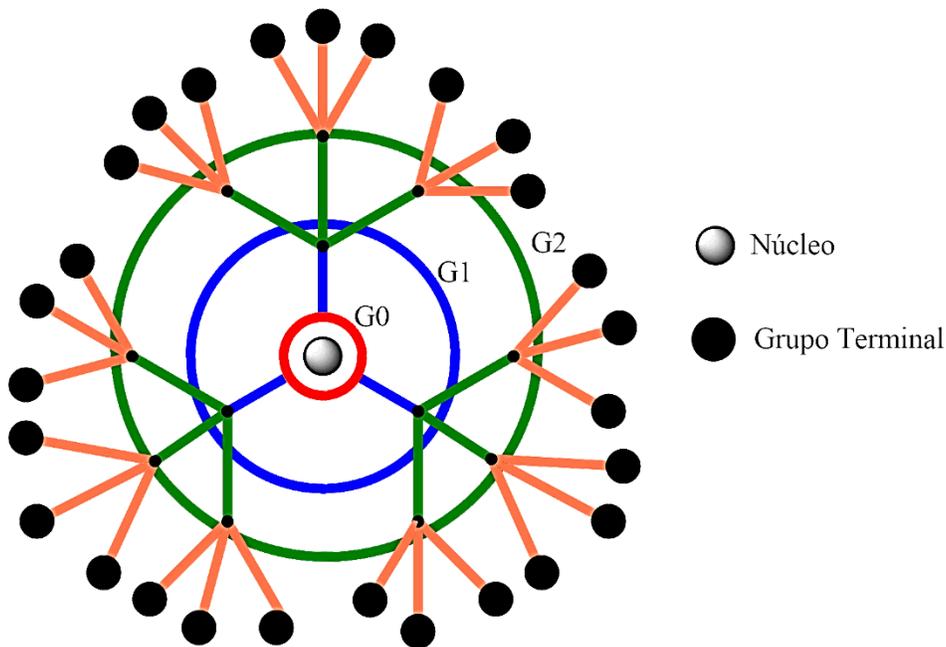


Figura 4. Estructura de un dendrímero.

El núcleo del dendrímero puede ser visto como el centro de la información molecular desde el cuál se van a definir: tamaño, forma, direccionalidad y multiplicidad; dichas características dadas por la unión covalente de los brazos dendríticos al núcleo del dendrímero.

En el interior del dendrímero se encuentran los brazos dendríticos o región de amplificación, los cuales definen el tipo y la cantidad de espacio vacío interno que puede

ser encapsulado por los grupos terminales. Por otro lado, la multiplicidad de celda de ramificación (N_b) determinan la densidad y el grado de amplificación como una función exponencial de generación (G). La composición interna y la cantidad de espacio vacío interno son las que determinan la naturaleza y propiedades del dendrímero para su capacidad de ser un endo-receptor¹⁵.

Finalmente, la superficie consiste en los grupos terminales del dendrímero, pudiendo estar activados o desactivados, los cuales pueden desempeñar varias funciones como: Región plantilla de polimerización o precursor de la siguiente generación o, como controlador de liberación o atrapamiento de moléculas huésped^{15, 29}.

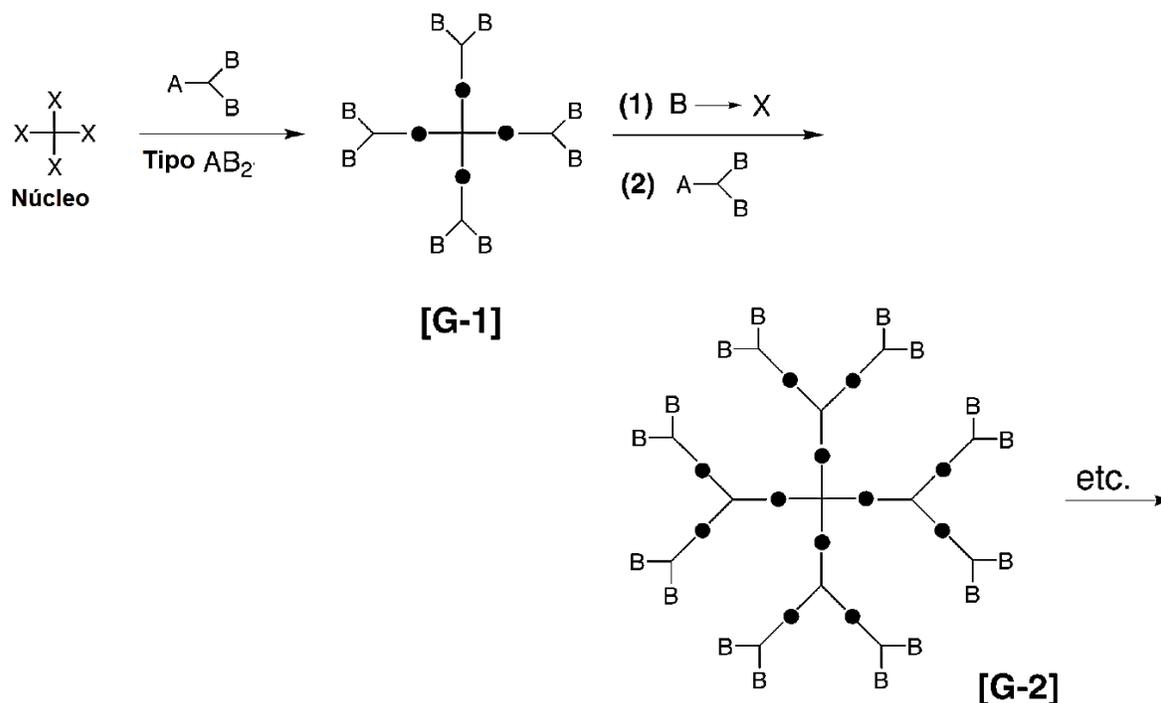
Éstos tres componentes de la arquitectura dendrímica determinan las propiedades fisicoquímicas del dendrímero, así como la forma y flexibilidad de los dendrímeros. Es importante hacer notar que el diámetro del dendrímero aumenta linealmente conforme aumenta la generación del dendrímero; además, el número de grupos terminales incrementa de manera exponencial. Uno de los problemas que hay en el crecimiento de los dendrímeros es el impedimento estérico y lo apretado de la molécula. Por esto es por lo que los dendrímeros de bajas generaciones son generalmente abiertas y flexibles, mientras que los dendrímeros de generaciones altas son robustos y con formas menos deformables^{15 29}.

En el caso concreto de los dendrímeros tipo PAMAM, los cuales son sintetizados mediante un método convergente, se usa una metodología por pasos secuenciales e iterativos alrededor del núcleo deseado. Lo usual es usar amoniaco o etilendiamina como centros (3 o 4 puntos de ramificación respectivamente). Seguido de una alquilación exhaustiva con acrilato de metilo y finalmente una aminólisis con etilendiamina. La reacción de alquilación produce ramificación y da las generaciones intermedias. La aminólisis da las generaciones completas. Repitiendo estos pasos se producen capas o generaciones adicionales las cuales amplifican la masa y aumentan el número de grupos terminales en la periferia^{30 15 29}.

1.4. Métodos de síntesis de dendrímeros

Los dendrímeros son sintetizados siguiendo secuencias de pasos iterativos³¹, es decir, un paso de activación y otro de acoplamiento. Cada repetición del ciclo crea una nueva generación adicional. La multiplicidad de ramificación depende de la valencia de la unidad monomérica usada, sin embargo, dicha multiplicidad puede ser generada durante los pasos de ramificación²⁷.

Por ejemplo, usando un núcleo tetraivalente, el número de grupos funcionales en la periferia serán: 4, 8, 16, 32 siempre y cuando se use un extensor de cadena tipo AB_2 (Esquema 7), por otro lado, pueden ser: 4, 12, 36, 108 grupos funcionales en la periferia si se usa un extensor de cadena tipo AB_3 ³⁰.



Esquema 7. Crecimiento de dendrímero usando un extensor de cadena tipo AB_2 .

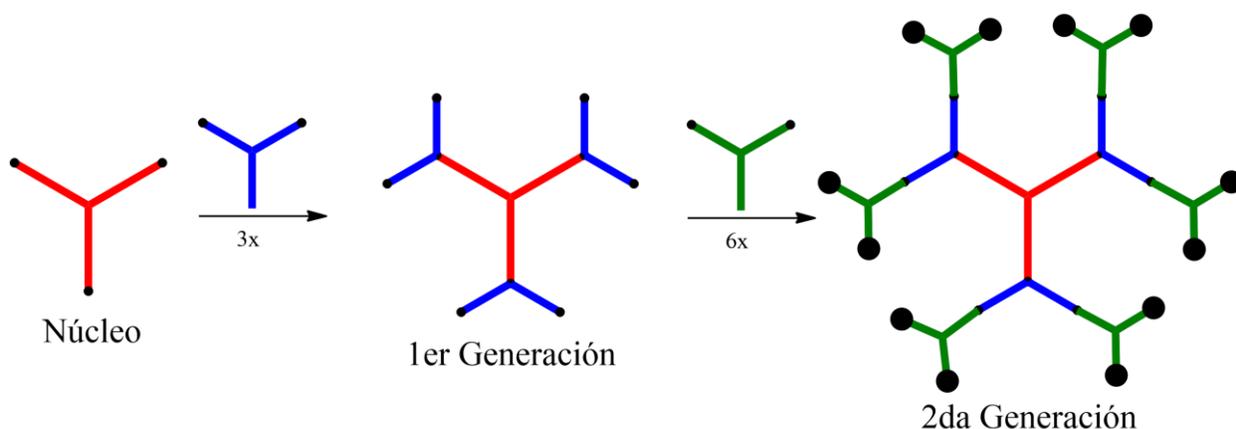
Este crecimiento de dendrímero es verdadero si se supone un proceso de ramificación perfecto, los defectos en la ramificación se van acumulando por cada

iteración acumulada. El problema no radica en cada paso de reacción si no en la cantidad de reacciones exitosas que deben ser hechas en la misma molécula³⁰.

Existen dos métodos generales de síntesis de dendrímeros: el método divergente y el método convergente. La diferencia principal entre ambos métodos está en la forma en la que se hacen crecer a los dendrones. Ambos métodos necesitan de los dos pasos básicos de crecimiento que son la activación del dendrímero y el acoplamiento del nuevo monómero. Se dice que los dendrímeros preparados por el método divergente son más polidispersos que los preparados por el método convergente; sin embargo, no se tiene información concluyente ya que ambos son vendidos comercialmente y ambos tienden a tener más errores estructurales conforme la generación es mayor^{30, 29}.

1.4.1. Método Divergente

En el año de 1985, Tomalia y Newkome desarrollaron como tal el método de síntesis divergente para dendrímeros. Dicho método consiste en empezar la construcción del dendrímero desde el centro hacia a la periferia. Esto consiste en funcionalizar el centro dendrimérico para acoplar la molécula que dará la primera generación y de esta forma proseguir hasta alcanzar la generación deseada (Esquema 8)^{28, 32}.



Esquema 8. Representación del método Divergente. “del centro hacia afuera”.

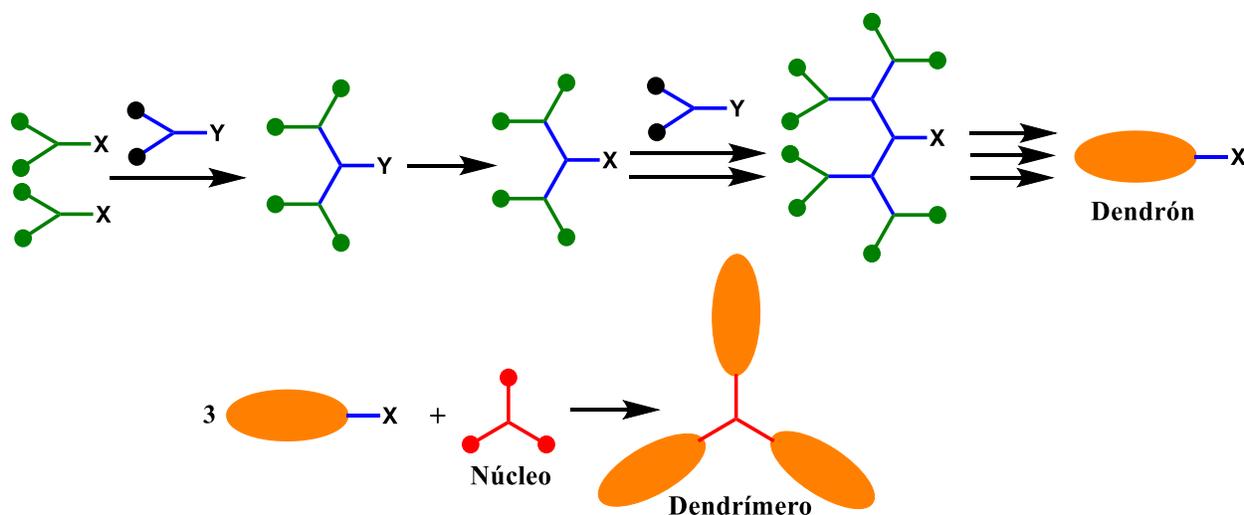
El inconveniente de este método estriba en que, con cada aumento de generación, aumenta, en al menos el doble la cantidad de sitios que tienen que ser funcionalizados, lo cual requiere el uso de grandes excesos de reactivos y grandes tiempos de reacción para que el dendrímero quede completamente funcionalizado o acoplado (según sea el paso del crecimiento). Además, se puede tener el problema de obtención de mezclas, en los cuales quedan sitios sin reaccionar y si el dendrímero es de alta generación, su separación puede volverse muy difícil y costosa^{28, 32}.

1.4.2. Método Convergente

En el año de 1990, Frèchet con Hawker y Miller con Neeman desarrollan el llamado método convergente, el cual consiste en empezar la construcción del dendrímero desde la periferia hacia el centro. Esto es, Se comienza sintetizando los dendrones a partir de una molécula ya funcionalizada y se hace el acoplamiento. Este proceso se repite tantas veces sea necesario para llegar a la generación deseada. Una vez llegada a la generación se acopla el grupo funcional final³³.

Una vez que el dendrón está construido en su totalidad, se procede a acoplar los dendrones a la molécula centro del dendrímero. Este método tiene la característica de no requerir un exceso de reactivos para aumentar la generación pues sólo se está construyendo una parte de la molécula y los sitios activos son menos (Esquema 9).

El inconveniente de dicho método es que el dendrón puede ser tan ramificado, que el impedimento estérico entre los dendrones sea lo suficientemente grande y dicho impedimento no permita la formación del dendrímero o sólo se conecten algunos dendrones^{33, 34}.

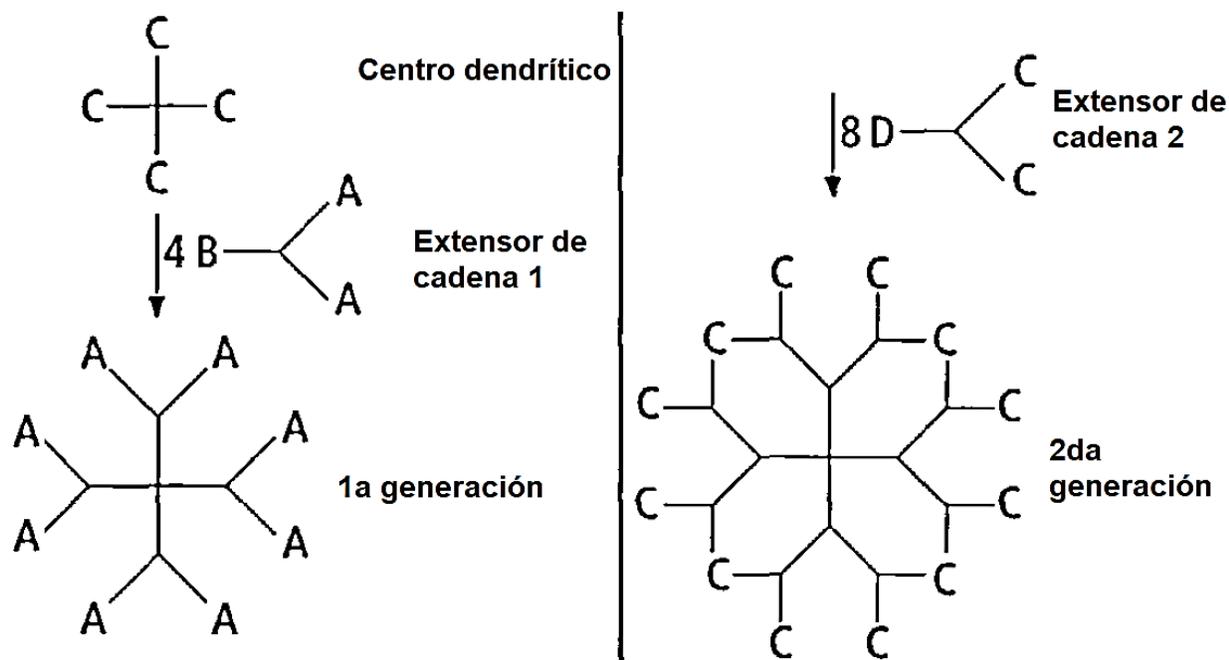


Esquema 9. Representación del método convergente, “De afuera hacia adentro”.

Una de las limitantes en la obtención de dendrímeros es la gran cantidad de tiempo que se consume en su síntesis. Por lo cual, se han desarrollado metodologías alternativas para acelerar el crecimiento de dendrímeros en menor cantidad de pasos.

1.4.3. Aproximación por reactividad mixta

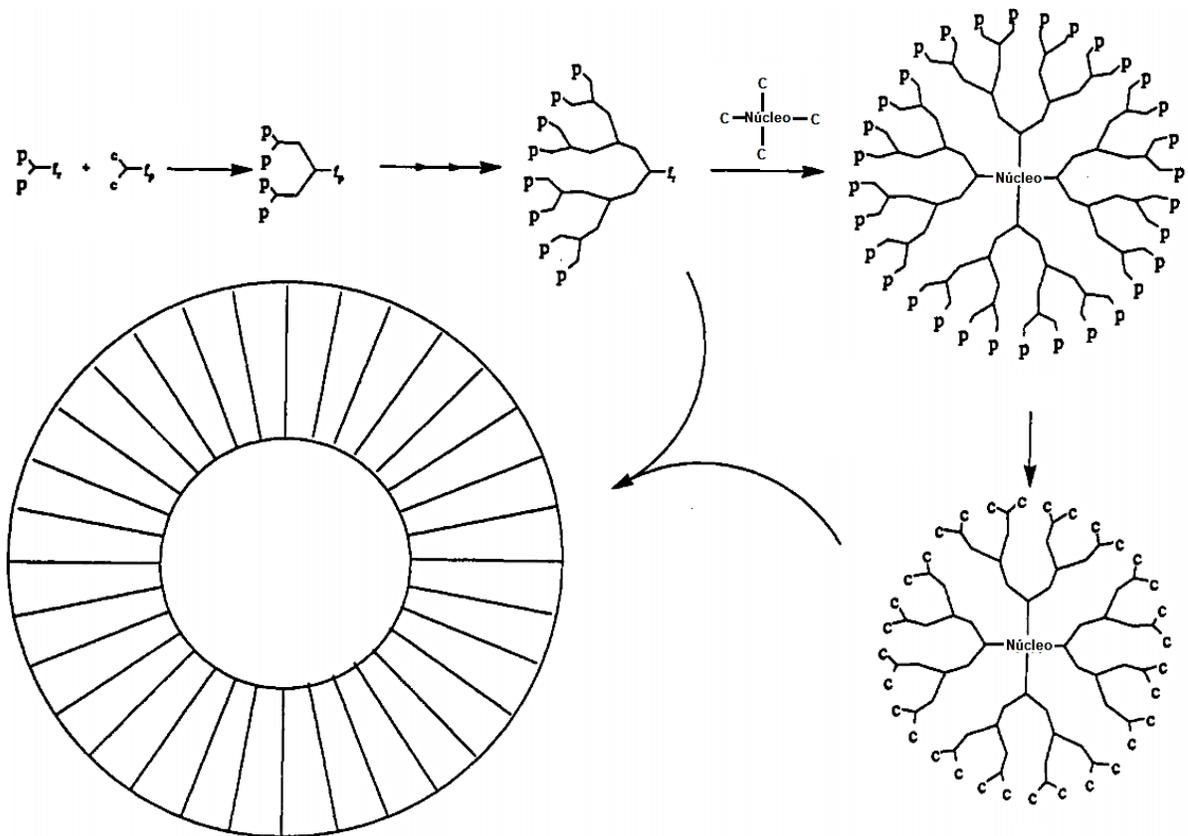
Desarrollado por Bo Petterson en 1996. Este método es muy similar al método divergente con la diferencia en el uso del extensor de cadena, pues se usa un extensor del tipo CD_2 en vez de usar un AB_2 . La diferencia con este tipo de extensores es que C sólo puede reaccionar con B y D, no reacciona ni con B o con C. La principal ventaja de este método es que se puede prescindir completamente de las reacciones de protección (Esquema 10)³⁵.



Esquema 10. Método de reactividad mixta.

1.4.4. Crecimiento convergente en etapa doble

Desarrollado por Fréchet en 1991 en el cual se trata de llegar a un dendrímero hiper ramificado en la menor cantidad de pasos posibles, se basa en el método convergente. La primera etapa de este método es la preparación del hipernúcleo flexible; la síntesis comienza con los grupos que van a ser la periferia del dendrímero o, con las cadenas finales del hiper núcleo a través del acoplamiento de la periferia del núcleo con uno de los monómeros que tenga al menos dos sitios reactivos y un grupo funcional protegido. Estos brazos dendríticos se acoplan al núcleo para así formar el hipernúcleo ramificado. Debido que el hipernúcleo aún tiene sitios reactivos, se tiene la posibilidad de agregar más brazos dendríticos a cada sitio dando como resultado un dendrímero hiperramificado (Esquema 11)^{36 37}.

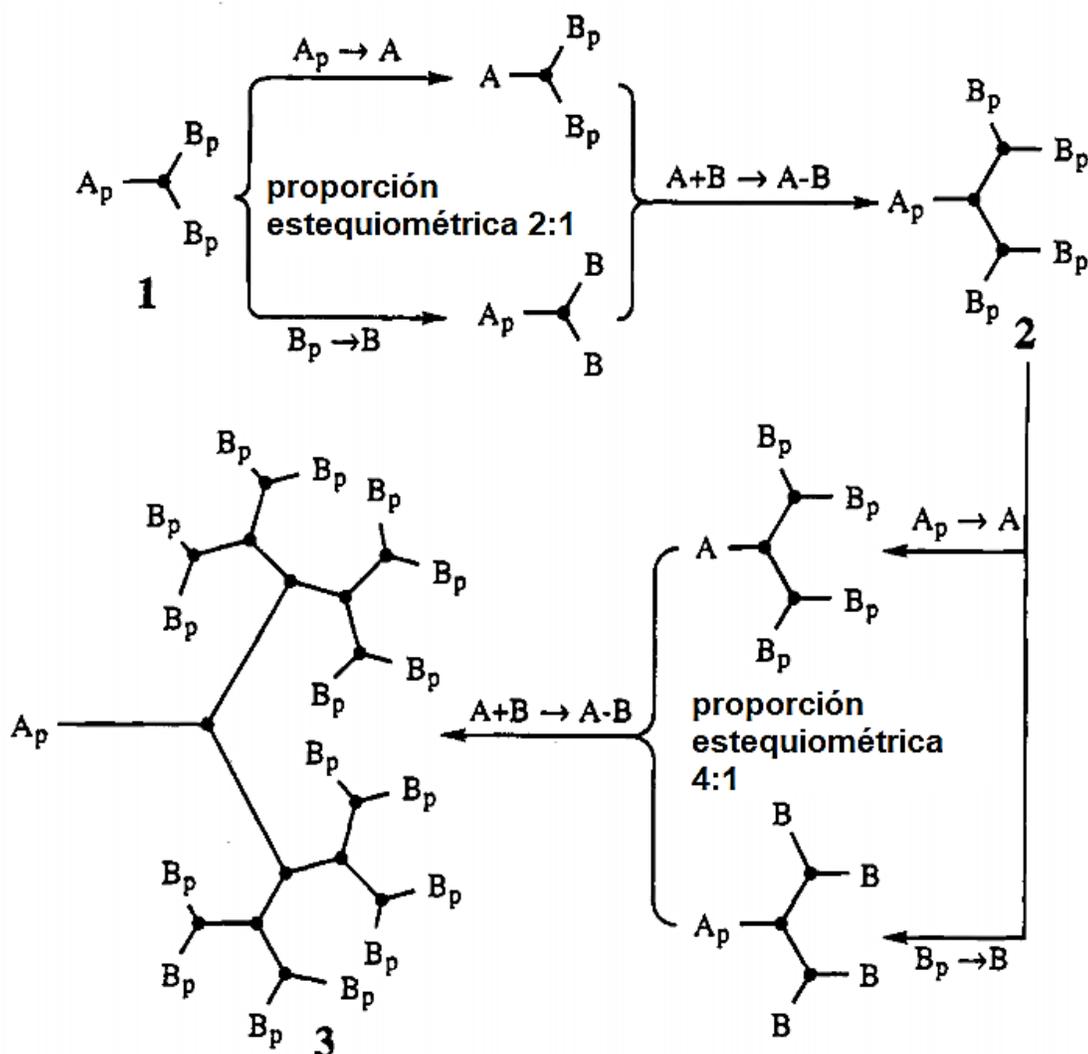


Esquema 11. Método de crecimiento convergente en etapa doble.

1.4.5. Método de crecimiento doble exponencial

Desarrollado en 1994, con este método se busca tener un crecimiento convergente acelerado, pero siendo regido por una ecuación doble exponencial en términos de la generación de la macromolécula usando un monómero del tipo $A_p(B_p)_2$.

El proceso inicia con una doble desprotección selectiva del monómero e involucra tres reacciones iterativas: desprotección selectiva de A_p obteniendo A y por otro lado la desprotección de B_p dando B; finalmente se hace el acoplamiento entre A y B quedando el dendrón ramificado (Esquema 12). Este proceso puede ser extendido a monómeros con mayor funcionalidad^{38 39}.

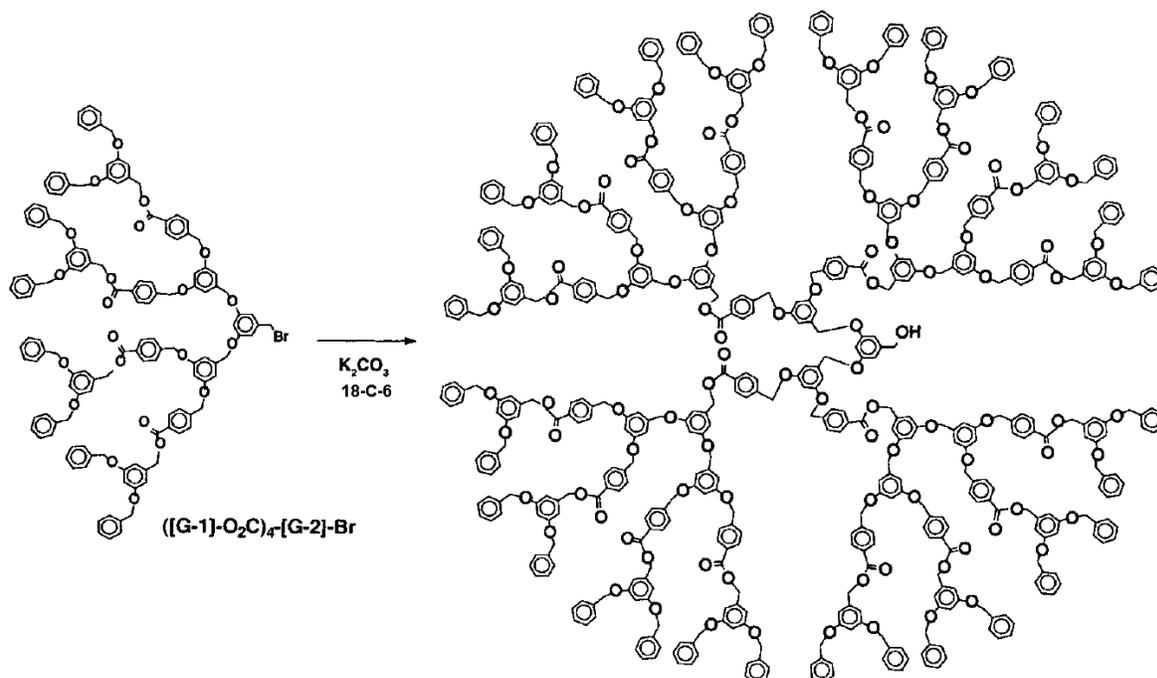


Esquema 12. Método de crecimiento doble exponencial.

1.4.6. Método de aproximación por monómero ramificado

Método desarrollado por el grupo de Fréchet en 1994. Básicamente es el método de crecimiento convergente con la diferencia de que en vez de usar extensores de cadena tipo AB_2 , se usan extensores de cadena tipo AB_4 . Por lo que la ramificación a la hora de crecer el dendrímero es del doble, permitiendo tener un dendrímero hiperramificado en una menor cantidad de pasos^{40, 41} (Esquema 13).

En comparación, los métodos de crecimiento exponencial y monómero ramificado son extensiones del método convergente donde se usan extensores de cadena del tipo AB_x donde $x \geq 4$, obteniendo dendrímeros de alta generación, pero en los que se necesitan menos pasos de reacción y un proceso de purificación más simple³⁰.

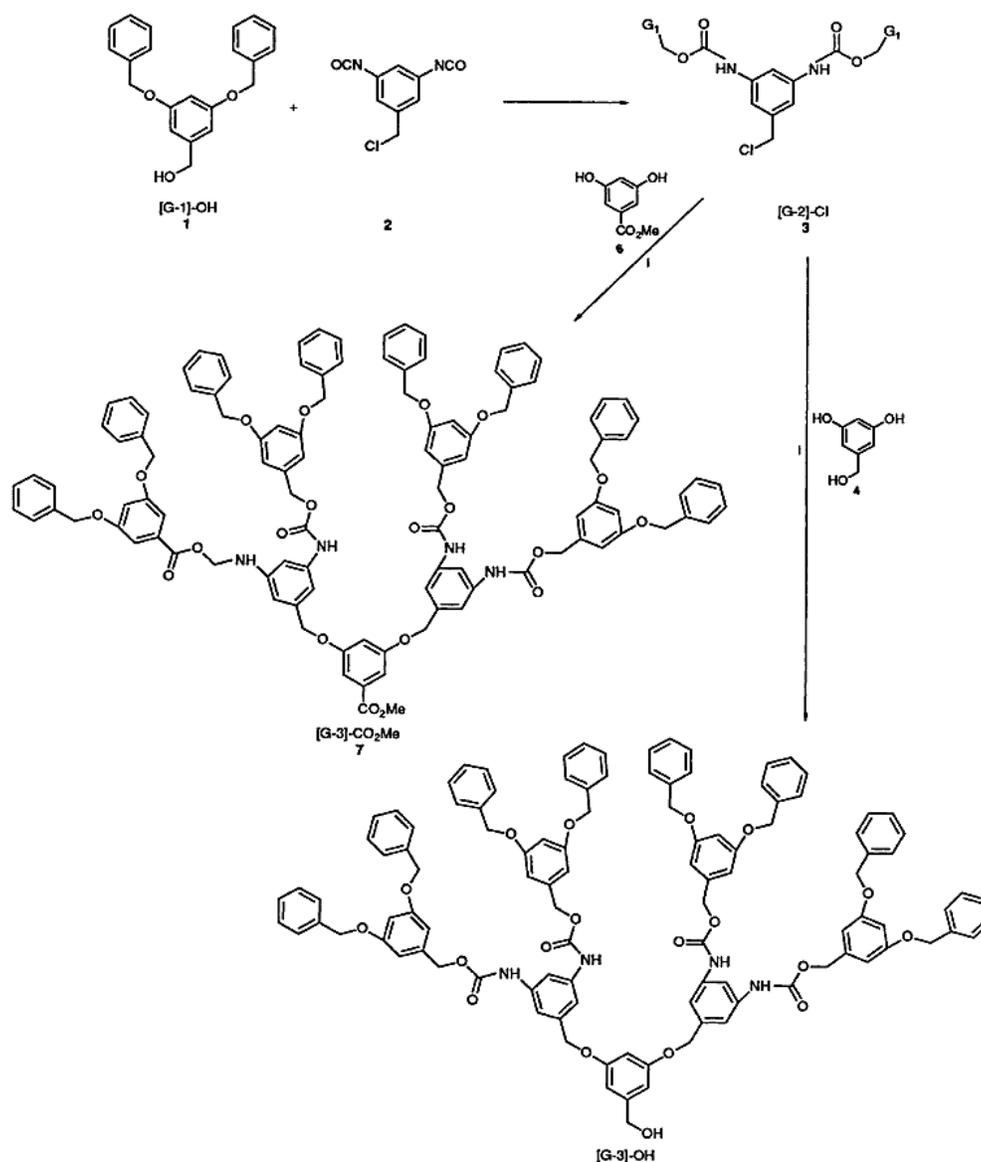


Esquema 13. Dendrímtero de 5ta generación usando un extensor de cadena tipo AB_4 .

1.4.7. Método de acoplamiento ortogonal

Este método fue desarrollado por Spindler y Fréchet en 1993. Es un método derivado del método convergente en que se usan extensores de cadena tipo AB_2 , pero escogiendo los monómeros adecuados de tal manera que se pueda obtener un dendrón de tercera generación en un solo paso a partir de monómeros de primera generación. Esto significa una reducción de 4 pasos de purificación y dos reacciones de desprotección.

Algunas necesidades de este método son: todas las reacciones deben ser libres de reacciones secundarias y los grupos funcionales formados durante las reacciones deben ser estables en las condiciones de reacción. Las primeras reacciones usadas en este método fueron la eterificación de Williamson y la formación de uretanos partiendo de isocianatos. El uso de estas dos reacciones cumple con las dos condiciones ya mencionadas. Los dos reactivos que se usaron al desarrollar el método fueron el 3,5-dihidroxibencilalcohol y el cloruro de 3,5-diisocianilbencilo (Esquema 14)^{42, 43}.

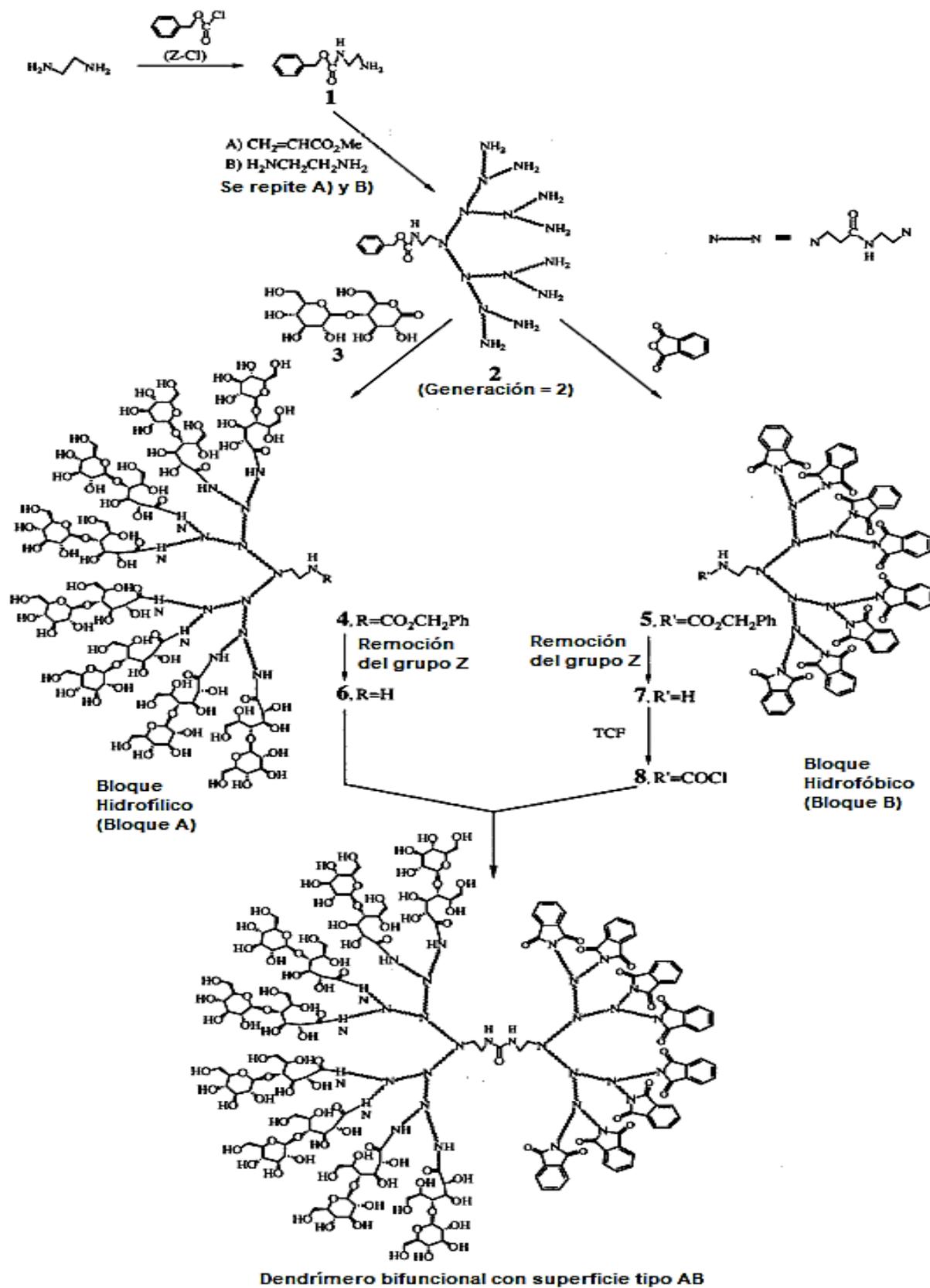


Esquema 14. Ruta de acoplamiento ortogonal seguida por Spindler y Fréchet.

Más allá de los métodos ya mencionados, que son modificaciones de los dos principales, se han desarrollado metodologías donde se combinan tanto el crecimiento divergente como el convergente. Estos nuevos métodos demuestran que los dendrones funcionalizados pueden ser usados como reactivos en la síntesis de nuevos compuestos del tipo dendriméricos. Uno de los ejemplos más importantes de este tipo de nuevos dendrímeros son los dendrímeros construidos por bloques o dendrímeros multifuncionales. La forma de obtener estos dendrímeros multifuncionales es construir los brazos o bloques dendríticos mediante una metodología divergente y al final unirlos al núcleo centro como si fuera un método convergente³⁰.

En 1997 se informó de un dendrímero bifuncional anfifilo tipo AB. Uno de los bloques se diseñó para usarlo como marcador de reconocimiento celular, el otro bloque para aplicaciones secundarias. El bloque A con aplicaciones de reconocimiento celular fue funcionalizado con disacáridos que es lo que da la característica hidrofílica. Por otro lado, el bloque B es un bloque hidrofóbico tipo PAMAM que fue usado como protector del núcleo dendrítico (Esquema 15)⁴⁴.

Derivado de esto, Vogtle ha introducido nuevos términos tales como “{n}dendril” para referirse a sustituyentes dendríticos de generación n y “dendreactivos” para referirse a reactivos dendríticos⁴⁵.



Esquema 15. Ruta de obtención de un dendrímico bifuncional tipo AB.

1.5. Aplicaciones de los Dendrimeros

Debido a que los dendrimeros tienen un arreglo simétrico con ramas dendríticas desde un núcleo, se tiene un número definido de grupos funcionales en la periferia. Por tanto, se tienen macromoléculas cuasi-monodispersas con estructura globular tridimensional que tienen gran capacidad de encapsulación de moléculas o reconocimiento molecular³⁰.

Las propiedades fisicoquímicas de los dendrimeros como: alta reactividad, baja viscosidad, alta solubilidad y miscibilidad, les permiten ser herramientas para ser usadas en varios campos de trabajo como adhesivos, agroquímicos, sensores, biosensores, lubricantes, membranas, micelas, reconocimiento molecular, nano dispositivos, termoplásticos, modificadores de viscosidad, acarreadores de fármacos, dispositivos en óptica no lineal, etc^{30, 15}.

1.5.1. Dendrimeros funcionales en capas delgadas

En años recientes se ha hecho especial énfasis en el uso de dendrimeros para el desarrollo de superficies funcionales tales como: biosensores, materiales de foto respuesta, y fabricación de Diodos Emisores de Luz Orgánicos (OLED's)¹⁵.

Un precedente de uso de dendrimeros en la fabricación de OLED's es el uso de polímeros pi-conjugados. Ya que una de las características para esta aplicación son las ramificaciones y la organización macromolecular, los dendrimeros son excelentes candidatos esta aplicación⁴⁶. Se han reportado usos de dendrimeros con brazos dendríticos tipo polímeros π -conjugados como: polifenilvinilenos o politiofenos y porfirinas como núcleos (Figura 5)⁴⁷.

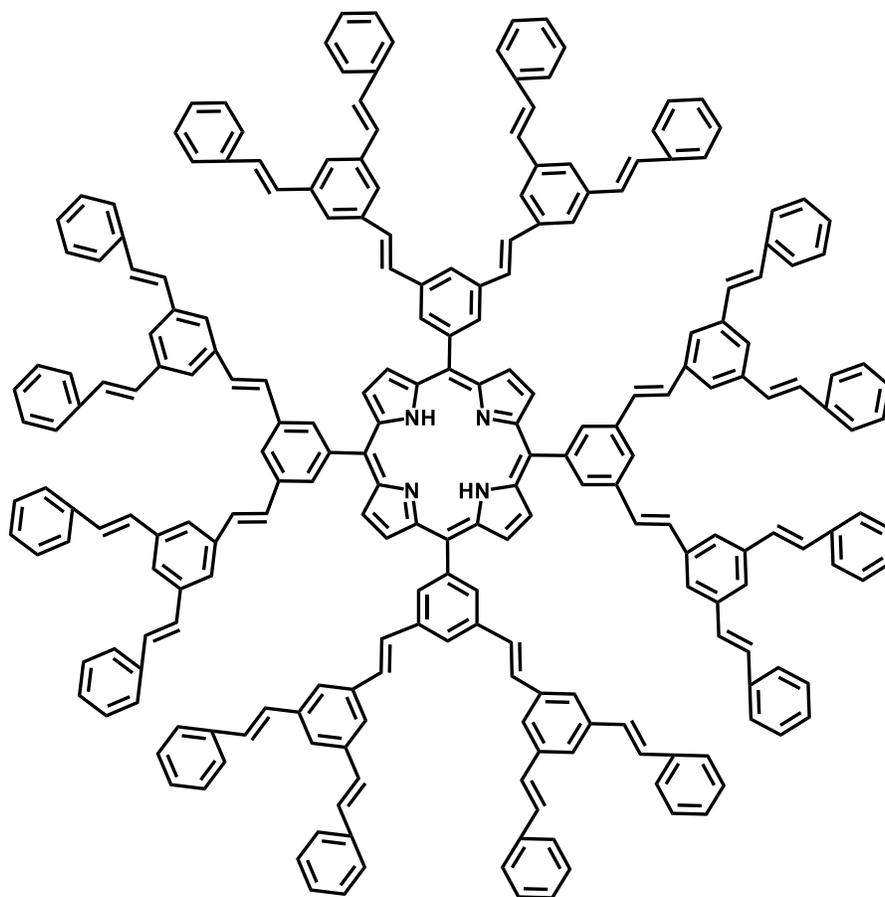
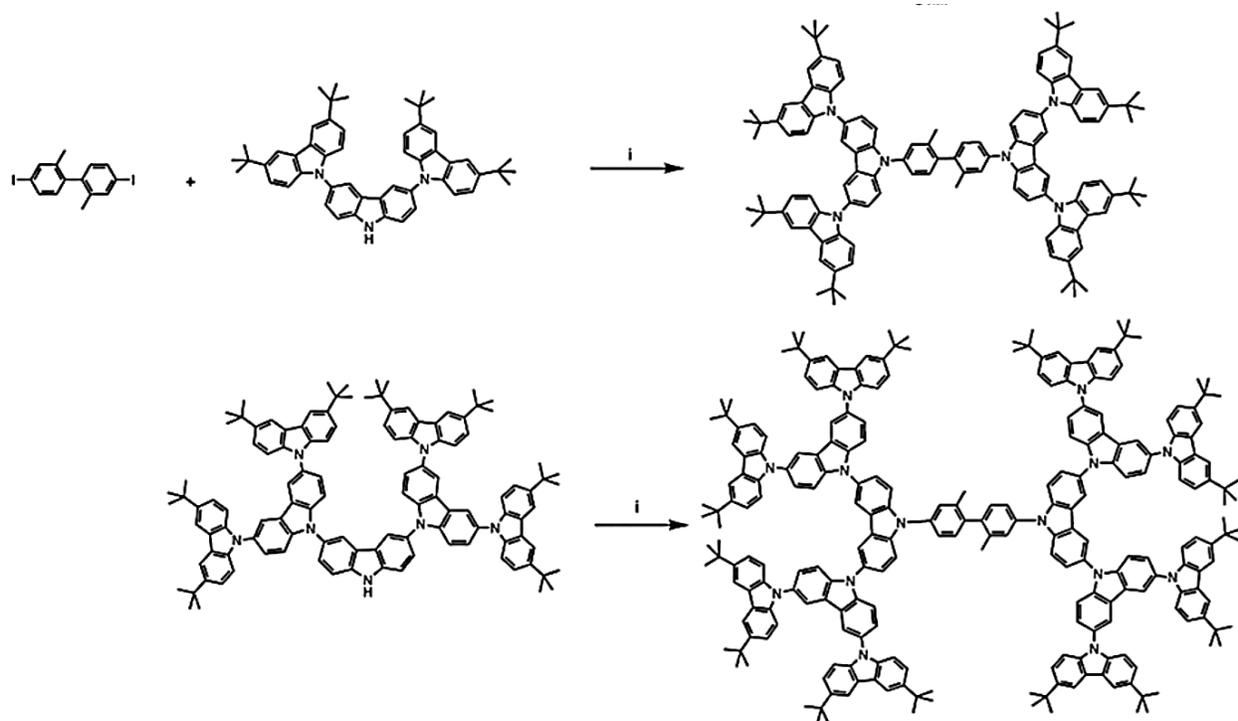


Figura 5. Dendrímtero con núcleo de porfirina y ramificaciones tipo PPV.

Además del uso de porfirinas y brazos tipo PPV, se han reportado dendrímeros con ramificaciones de carbazoles para su uso en LED's azules debido a gran energía de estado triplete de 2.86 eV. Algunos ejemplos son: uso de dendrímeros con núcleo de 2,2'-dimetil-4,4'-diyodo-bifenilo y brazos dendríticos de carbazoles. (Esquema 16)⁴⁸.



Esquema 16. Dendrimeros con ramificaciones de carbazoles.

1.5.2. Dendrimeros como catalizadores

Derivado de la multifuncionalidad que tienen los dendrimeros y de la síntesis de metalodendrimeros, se ha desarrollado el estudio de su uso dentro de la catálisis homogénea. A pesar de su gran tamaño, se piensa que los dendrimeros combinan las ventajas de ambas catálisis. Ya que, por su forma semiesférica y sus conformaciones, debe haber facilidad para que entren los sustratos a los centros metálicos dando cierta especificidad y solubilidad¹⁵.

El primer metalodendrímico usado como catalizador fue un carbosilano dendrímico sintetizado por Van Leeuwen⁴⁹. En dicha molécula la periferia fue hecha con 1,4-butanodiol para mantener los centros metálicos lejos de los carbosilanos. El centro metálico fue níquel, el cual fue introducido por medio de una adición oxidativa partiendo de una fuente de Ni(0) (Figura 6)¹⁵

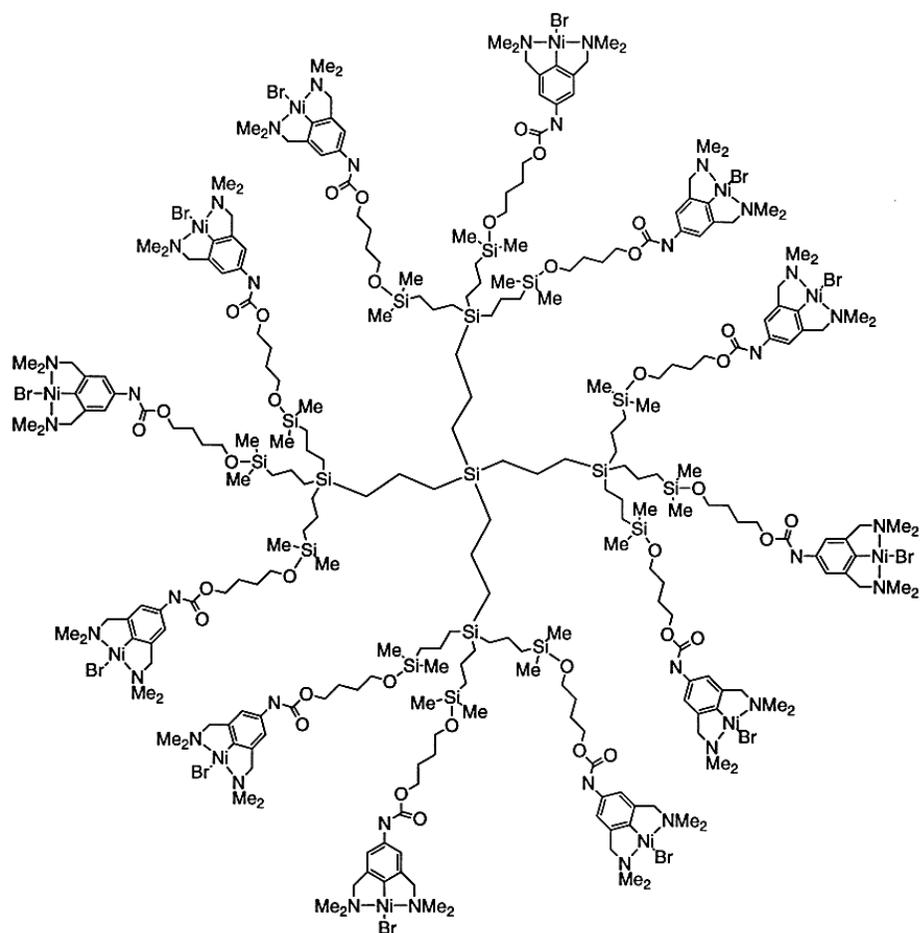


Figura 6. Metalodendrímtero de carbosilanos.

1.5.3. Química Huésped-Hospedero en dendrímeros

La encapsulación de moléculas huésped en hospederos dendríticos fue propuesta por Maciejewski en 1982⁵⁰. En 1990 Tomalia presentó evidencia de encapsulamiento molecular en dendrímeros tipo PAMAM⁵¹. Finalmente, Jansen fue quien demostró que era posible físicamente el alojamiento dentro de un dendrímero en lo que él llamó “la caja dendrítica”. Su caja dendrítica fue hecha con un dendrímero de 5ta generación tipo PPI (Poli(propilenimina)) con 64 grupos amina terminales (Figura 7)⁵².

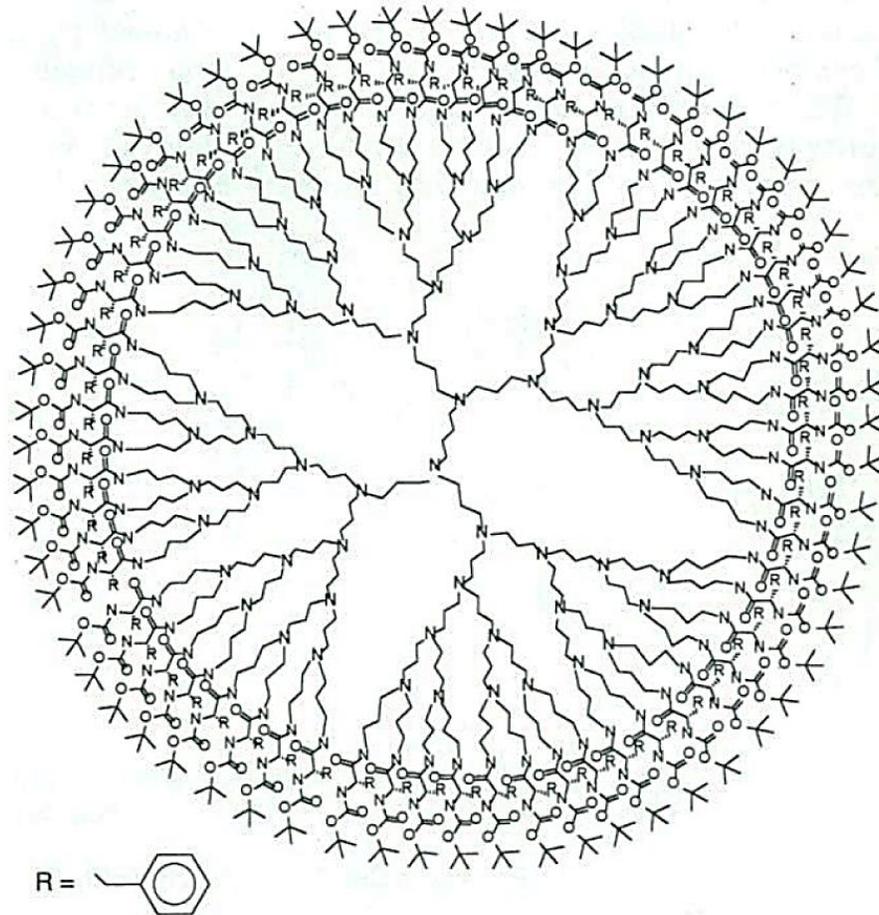


Figura 7. Caja dendrítica de Jansen.

Finalmente, otra de las aplicaciones de la química huésped-hospedero es la de los dendrímeros como acarreadores de fármacos. El uso de estos dendrímeros tiene múltiples aplicaciones como: actividad antiviral, actividad antiparasitaria y actividad antitumoral⁵³.

1.6. Dendrímeros como acarreadores de fármacos

Los dendrímeros más comunes para las aplicaciones en acarreo de fármacos son: PAMAM, PPI, Poliamidas(polipéptidos)⁵⁴, poli(ariléteres), carbohidratos⁵⁵ y ADN⁵⁶. Sin

embargo, los PAMAM son lo que mayor cobertura y aplicaciones tienen, probablemente debido a que son moléculas comerciales con una amplia gama de generaciones y superficies funcionalizadas.

Con el objetivo de aumentar la eficacia farmacológica de los fármacos anticancerígenos se ha hecho un gran desarrollo en herramientas de liberación de fármacos. La unión de fármacos a acarreadores apropiados permite una mejora en la solubilidad acuosa, la extensión de la vida media del fármaco dentro del organismo y aumento en la especificidad a ciertos tejidos. En estas aplicaciones, los dendrímeros han sobrepasado a los acarreadores poliméricos lineales gracias a su versatilidad y multivalencia a la hora de hacer conjugados dendriméricos con fármacos.

La interacción fármaco-dendrímero o la carga del fármaco en el dendrímero se puede dar de tres formas⁵⁷:

- Encapsulación en el interior del dendrímero (caja dendrítica).
- Encapsulación electrostática.
- Conjugación por formación de enlaces covalentes.

Algunos ejemplos de fármacos acarreados por dendrímeros han sido como anticancerígenos. Se reportó el acoplamiento del fármaco *cis*-platino (20-25% en peso) a la periferia de un dendrímero PAMAM-carboxilato G4 con el objetivo de aumentar (al menos 10 veces) la solubilidad del fármaco. Derivado de este uso, se observó que la liberación del fármaco fue más lenta, que hubo mayor concentración de fármaco en el tumor y que disminuyó la citotoxicidad⁵⁸.

Los dendrímeros PAMAM también se han usado en el acarreo de metotrexato (MTX) en el tratamiento de carcinoma cervical en ratones. Con su uso se observó una notable disminución de la expansión del tumor⁵⁹.

Por otro lado, dentro de las aplicaciones del acarreo de fármacos, se encuentra el acarreo de antiinflamatorios no esteroideos (AINE's) por dendrímeros tipo PAMAM con el objetivo de usarlos contra células de carcinoma epitelial en pulmón⁶⁰.

El uso de AINE's en terapias anticancerígenas se ha expandido en los últimos años. Principalmente en su uso como fármacos modelo por su evaluación de actividad celular bien conocida y definida. Debido a esto se abordará con más detalle su uso.

Dentro del grupo de trabajo se han realizado exitosamente la síntesis de dendrímeros tipo PAMAM con diferentes tipos de centros dendríticos tales como porfirinas y resorcinarenos; así como con diferentes fármacos tales como benzodiazepinas⁶¹, melfalam⁶², Flutamida⁶³ e ibuprofeno^{64, 65}.

2. Antiinflamatorios no esteroideos (AINE's)

Son fármacos que no pertenecen a un grupo químico en específico que tienen propiedades antiinflamatorias, analgésicas y antipiréticas, por lo que reducen los síntomas de inflamación, dolor y fiebre⁶⁶. El origen de estas propiedades terapéuticas en los AINE's está dado por su efecto sobre las enzimas ciclooxigenasas 1 y 2 (COX-1 y COX-2).

En contraste, existen antiinflamatorios que son producidos por seres vivos y que son derivados de los corticoides (antiinflamatorios esteroideos), de ahí la necesidad de recalcar el término “no esteroideo” para diferenciar la estructura química de los fármacos. Aunque la acción antiinflamatoria de los esteroideos es grande, los efectos secundarios derivados de ellos los vuelven peligrosos para su uso común. El término AINE fue acuñado por Michael W. Whitehouse en 1960⁶⁷.

La vía de acción de los AINE's está definida, principalmente por la inhibición de la enzima ciclooxigenasa (COX-1) y en parte por la inhibición de la enzima ciclooxigenasa-2 (COX-2). La inhibición de ambas enzimas previene la conversión del ácido araquidónico en endoperóxidos cíclicos evitando así la síntesis de prostaglandinas y tromboxanos. Estos últimos son los mediadores de la inflamación⁶⁸.

Se ha observado que la inhibición de la enzima COX-2 es la que conlleva la acción antiinflamatoria, analgésica y antipirética, por lo que si el AINE inhibe tanto COX-1 como COX-2, tienen capacidad de causar hemorragias digestivas y úlceras. De esto que se enfatice la inhibición selectiva de la COX-2⁶⁷.

La enzima COX-1 está presente en la mayoría de los tejidos que sintetizan prostaglandinas como: riñón, mucosa del estómago, duodeno, etc. La COX-2 está presente en los tejidos donde se da la respuesta inflamatoria tales como: el cerebro, pulmón, páncreas, etc. Al inhibir la síntesis de prostaglandinas se da el efecto antiinflamatorio junto con varios de los efectos tóxicos asociados a los AINE's⁶⁹.

2.1. Clasificación de los AINE's

Los AINE's son clasificables según su mecanismo de acción; es decir, cómo actúan sobre las COX:

- Porcentaje de inhibición de COX-2 vs COX-1.
- Porcentaje de inhibición de COX-1 al inhibir 80% de COX-2.

La forma más común de clasificación por su estructura química principal (Figura 8):

- **Salicilatos:** Ácido acetilsalicílico, Clonixina, Benorilato y Salicilamida.
- **Indol-acéticos:** Acemetacina, indometacina, Sulindaco y Tolmetín.
- **Arilo-Acéticos:** Diclofenaco, Ketorolaco y Etodolaco
- **Ácidos Enólicos**
 - **Oxicanes:** Meloxicam y Piroxicam
 - **Pirazolonas:** Oxifenbutazona y Metamizol
- **Arilpropiónicos:** Ibuprofeno, Ketoprofeno, Naproxeno e indoprofeno
- **Fenematos:** Etofenemato, Ac. Meclofenámico y Ac. Flufenámico.
- **Coxibes:** Celecoxib, Rofecoxib y Etoricoxib
- **Otros:** Nimesulida, Glucosamina y Benzidamina

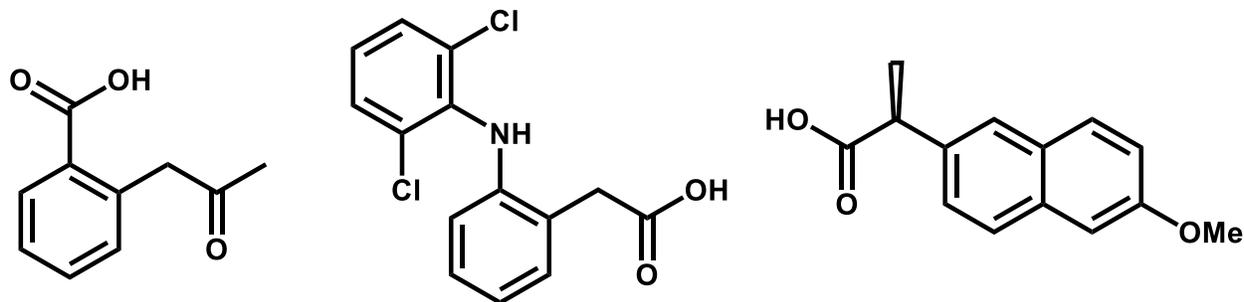


Figura 8. Algunos AINE's de uso común (Aspirina, Diclofenaco y Naproxeno).

2.2. Uso de AINE's en terapia anticancerígena

Además de su uso como antiinflamatorios, antipiréticos y analgésicos, en años recientes se ha desarrollado su uso como agentes quimiopreventivos y en quimioterapia contra el cáncer. La idea de prevenir el cáncer se dio en la década de los 50's y fue hasta los 70's que Michael Sporn⁷⁰ acuña el término “Quimioprevención” para referirse a compuestos, tanto naturales como sintéticos, que inhibieran la carcinogénesis. Dichos compuestos deben prevenir la ocurrencia de lesiones preneoplásicas o, retrasar o revertir la progresión metastática⁷¹.

Como ya se había mencionado, las enzimas ciclooxigenasas (COX) son de las principales responsables en los procesos inflamatorios y de la producción de eicosanoides como prostaciclina y el tromboxano y, aunque no se tiene clara la relación entre los eicosanoides con la carcinogénesis, los niveles de eicosanoides siempre son altos en muchos tipos de tumores humanos⁷² Las ciclooxigenasas, principalmente la COX-2, están sobre expresadas en varios tumores, de aquí que se haya hecho investigación sobre el uso de inhibidores de COX en los tratamientos de estos cánceres⁷³.

De los primeros reportes que se tienen del uso de inhibidores de COX del tipo AINE's es uno en el que se usa Celecoxib, que es selectivo a la inhibición de COX-2,

inhibe la apoptosis en células cancerígenas de próstata; además, bloquea la fosforilación y activa una cinasa antiapoptoica⁷⁴.

También, se ha reportado el uso de piroxicam para el tratamiento de neoplasia intestinal. En dicho estudio se administra 200 ppm de piroxicam a ratones por 100 y 200 días; observándose al término de los 100 o 200 días el tumor tuvo una regresión significativa en ambos casos⁷⁵.

Siguiendo este modelo de estudio con AINE's, se han estudiado la aspirina, ibuprofeno y naproxeno. El problema es que, debido a las grandes y prolongadas dosis de AINE's suministradas, los sujetos de estudio presentan efectos adversos gastrointestinales. Estos efectos pueden ir desde dispepsias moderadas hasta perforaciones intestinales⁷⁶.

A pesar de que el uso de AINE's puede ayudar a disminuir y prevenir ciertos tumores cancerígenos, sus efectos adversos son lo suficientemente visibles que se tiene que buscar una alternativa para disminuir la cantidad de fármaco suministrado o hacer que su efecto quimioterapéutico aumente sin que aumente la toxicidad. Un buen candidato para esta aplicación son los conjugados dendriméricos con AINE's.

2.3. Conjugados dendriméricos con AINE's para quimioterapia

Las características de los dendrímeros, cuando son comparadas con la de los polímeros lineales, hacen de los dendrímeros un excelente candidato para el acarreo de AINE's y otros sistemas de acarreo de fármacos.

Se han reportado estudios de dendrímeros tipo PAMAM complejados con ibuprofeno para su uso como acarreador⁷⁷. En dicho estudio se observó que el uso del dendrímero aumenta considerablemente la solubilidad del fármaco con respecto a su forma libre y con el uso de tensoactivos como el laurilsulfato de sodio. Además, los

resultados mostraron que la liberación del ibuprofeno del complejo ibuprofeno-dendrímico fue mucho más lenta que en la forma libre del fármaco. Por el contrario, cuando se usaron los mismos complejos en células cancerígenas, se observó que la liberación era mucha más rápida con respecto a la formulación del fármaco libre por lo que se sugiere que los dendrímeros tipo PAMAM fueron capaces de aumentar la proporción de fármaco dentro de la célula⁷⁷

De esta manera se han reportado estudios de conjugado o complejos dendriméricos con indometacina, flurbiprofeno, naproxeno y Ácido Salicílico⁷⁸ (Figura 9).

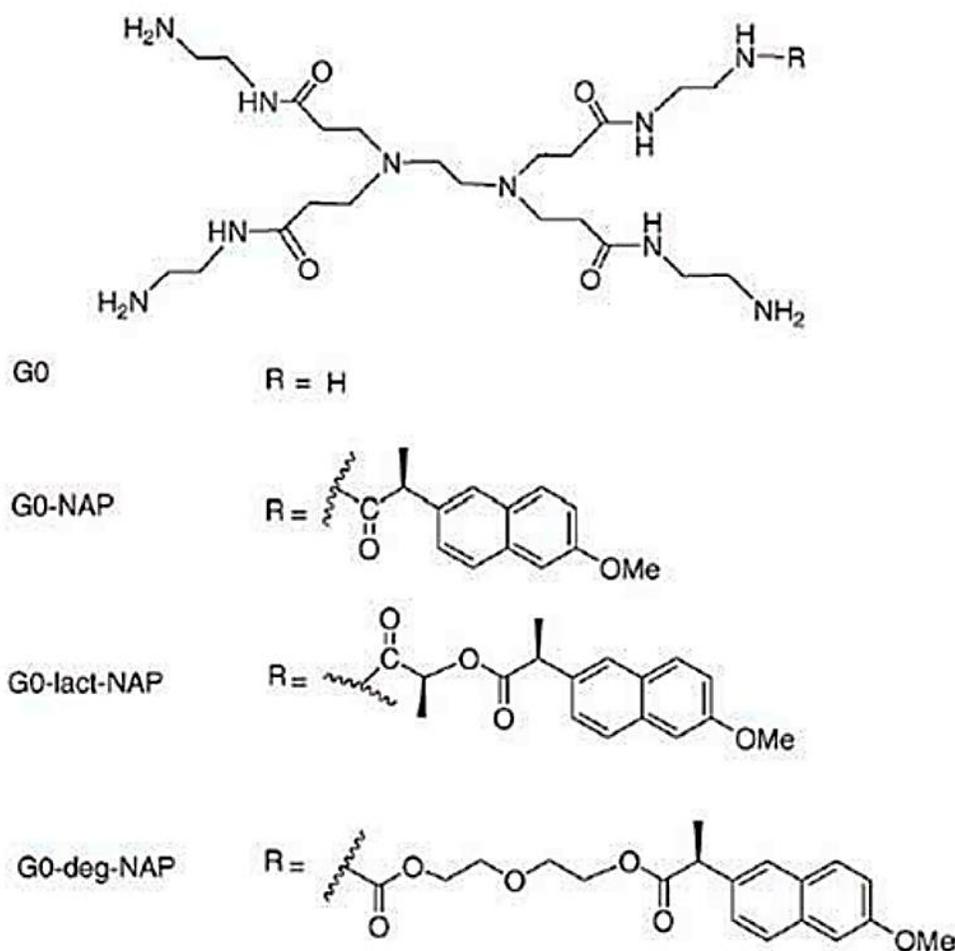


Figura 9. Conjugados dendriméricos tipo PAMAM.

Como la mayoría de los fármacos, la encapsulación o la unión por interacciones electrostáticas mantiene su estructura sin alteraciones, mientras que la unión covalente a la periferia del dendrímero ofrece un mayor control sobre la liberación del fármaco.

Además, la conjugación covalente permite el uso en tejidos objetivo. En la Figura 10 se puede observar la concentración del fármaco con respecto al tiempo, donde se observa que la concentración mayor la tiene el fármaco libre, pero se tiene que dar dosis seguidas. Con respecto a los complejos y conjugados, los complejos alcanzan mayor concentración, pero decaen drásticamente; cosa que con los conjugados no sucede: la concentración es menor, pero se mantiene constante por mucho mayor tiempo⁷⁸.

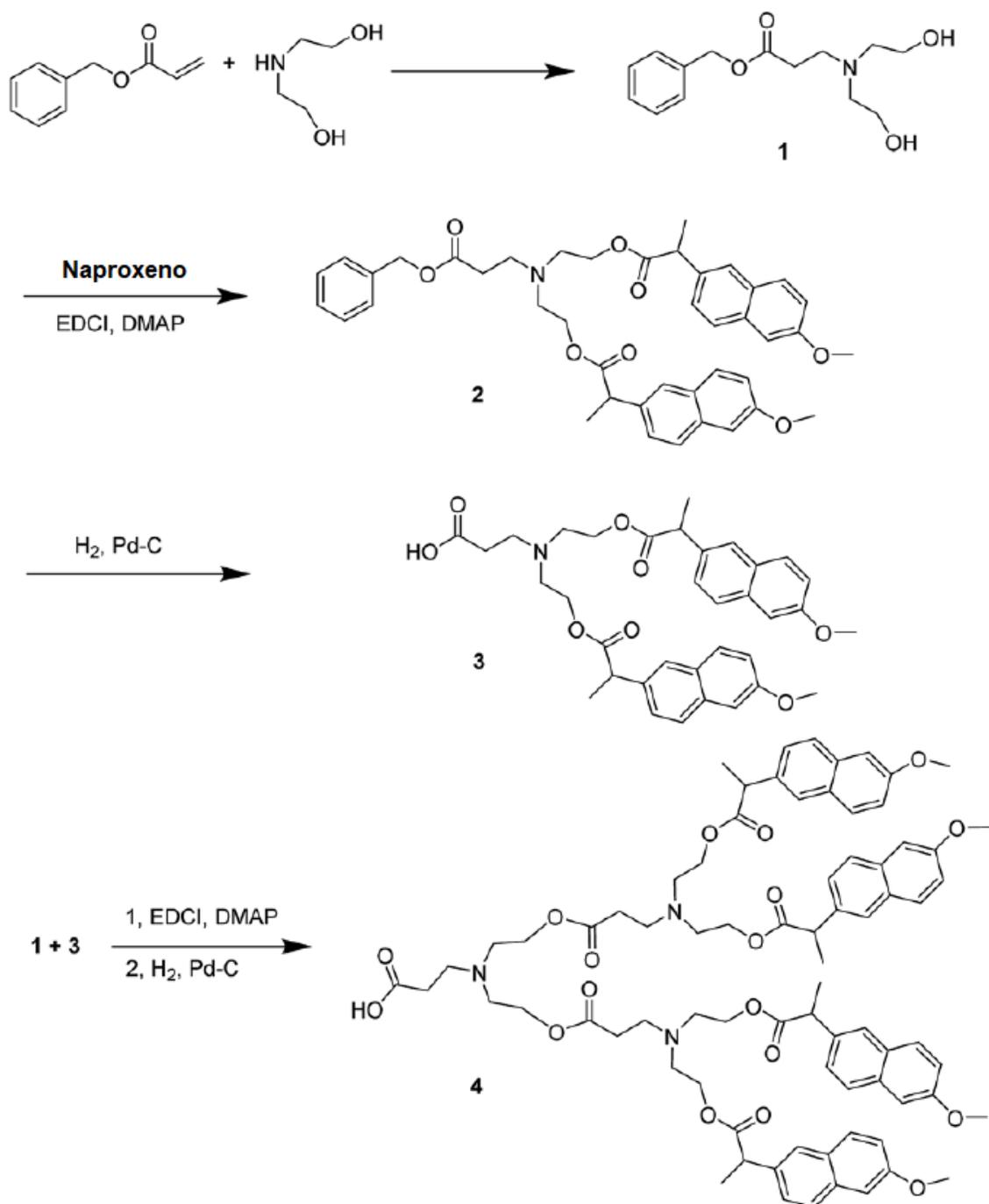


Figura 10. Gráfica de potencial farmacocinético de A) dosis tradicional, B) complejos fármaco dendrímero y C) conjugados dendriméricos.

Se han sintetizado varios ejemplos de conjugados dendriméricos con naproxeno con aplicaciones en acarreo de fármacos:

Li Guo *et al.* reportaron la obtención de conugados dendriméricos con naproxeno hechos con péptidos y características anfífilas para formación de micelas acarreadores

de curcumina (Esquema 17). Éstos, con el objetivo de usarse contra de células de osteosarcoma⁷⁹.



Esquema 17. Conjugados dendriméricos micelares con naproxeno.

De igual manera, se tienen reportes de complejos fármaco-dendrímico entre dendrímeros tipo PAMAM, usando como núcleo un poliéteramina (JEFFAMINE T-3000) y naproxeno. En dicho estudio usan diferentes grupos terminales (éster, ácido y amina) para la periferia del dendrímico y así determinar que grupos funcionales permiten una mayor carga de fármaco dentro del dendrímico y a su vez, cual es el de menor toxicidad (Figura 11)⁸⁰.

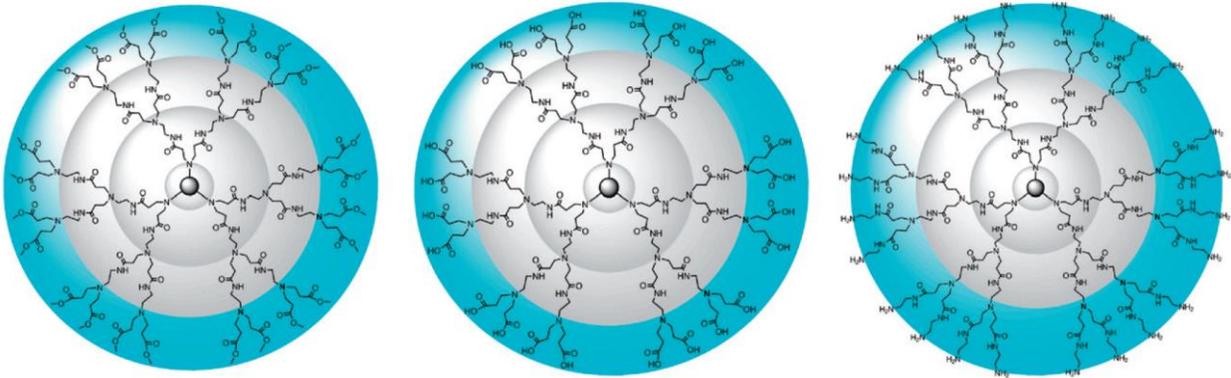


Figura 11. Dendrímicos con núcleo de JEFFAMINE usados en formación de complejos dendrímico-naproxeno.

Por todo lo expuesto anteriormente se espera que los dendrímeros sigan jugando un papel importante en las bioaplicaciones para el presente siglo. Los dendrímeros y la formación de complejos/conjugados parecen ser de las mejores opciones que se tienen para quimioterapia y quimioprevención en el área del cáncer. Lo único que aún falta es mejorar la biocompatibilidad de los dendrímeros al cuerpo humano.

3. Naproxeno

El naproxeno o (S)-naproxeno es un fármaco perteneciente a la familia de los antiinflamatorios no esteroideos (AINE) y fue introducido al mercado por Syntex en 1976. Es un fármaco que se vende de forma ópticamente pura (Isómero S) (Figura 12)⁸¹.

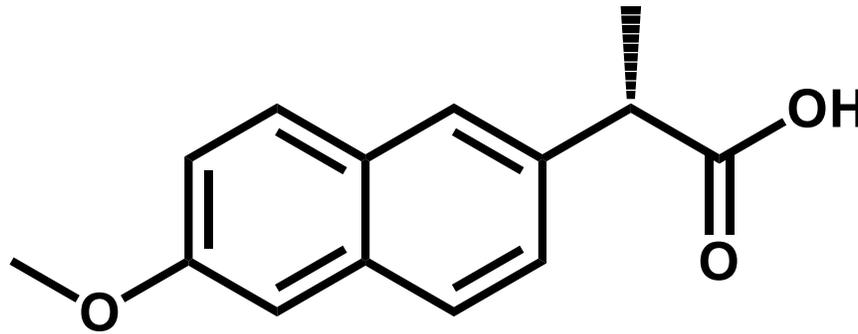


Figura 12. Estructura del (S)-Naproxeno.

3.1. Aplicaciones del Naproxeno

El naproxeno tiene propiedades analgésicas, antiinflamatorias y antipiréticas. Como los otros AINE's su modo de acción no es entendido completamente; sin embargo, su habilidad para inhibir la producción de prostaglandinas puede estar relacionado con sus propiedades⁸².

El uso de Naproxeno está indicado para las siguientes enfermedades:

- Artritis reumatoide.
- Osteoartritis.
- Espondilitis anquilosante
- Tendinitis
- Bursitis

Así como en el tratamiento de dolores leves, medios y el tratamiento de dismenorrea primaria⁸².

Con base en lo mencionado sobre los dendrímeros y capacidad para acarrear fármacos y el uso del naproxeno por sus propiedades analgésicas, antiinflamatorias y antipiréticas es que. En el presente proyecto de investigación se propone la obtención de conjugados dendriméricos tipo PAMAM.

Para dicho fin, se usará una aproximación de síntesis divergente para la obtención de los dendrones y, la activación del naproxeno por medio de una reacción de formación de cloruro de acilo para finalizar con el acoplamiento del fármaco activado a los dendrones.

La obtención los conjugados permitirá el posterior estudio del uso de dendrímeros conjugados tipo PAMAM con naproxeno en terapia anticancerígena y, el fármaco al ser acarreado aumente su actividad farmacológica sin necesidad de usar cantidades tóxicas del fármaco en su forma libre.



OBJETIVOS

Objetivo

Sintetizar y determinar la actividad biológica de conjugados dendriméricos tipo PAMAM usando como fármaco Naproxeno. Además, que puedan ser acoplados a diferentes tipos de núcleos dendríticos para dar diferentes propiedades fisicoquímicas.

Objetivos Particulares

- Sintetizar dendrones tipo PAMAM de G1.0 y G2.0 partiendo de etanolamina y usando una aproximación divergente.
- Sintetizar dendrones tipo PAMAM de G1.0 y G2.0 partiendo de propargilamina y usando una aproximación divergente.
- Obtener los conjugados dendriméricos entre los dendrones de G1.0 y G2.0 de etanolamina y propargilamina con naproxeno.
- Caracterizar por técnicas espectroscópicas todos y cada uno de los productos obtenidos.
- Una vez caracterizados cada uno de los compuestos, hacer pruebas de actividad biológica de los conjugados para hacer una determinación primaria de su uso como anticancerígenos en células tumorales comunes.

EQUIPO, REACTIVOS Y DISOLVENTES USADOS

EQUIPOS

- **Resonancia Magnética Nuclear**

BRUKER AVANCE 300 MHz

JEOL Eclipse 300 300 MHz

BRUKER AVANCE III 400 MHz

BRUKER Ascend 500 MHz

Referencia ^1H Tetrametilsilano (Me_4Si , 0.00 ppm).

Disolventes: Cloroformo deuterado (CDCl_3), Metanol deuterado (CD_3OD), Dimetilsulfóxido deuterado ($\text{C}_2\text{D}_6\text{SO}$).

- **Espectrofotometría de UV-Vis y Emisión**

Espectrofotómetro SHIMADZU UV 160 U.

- **Espectrofotometría de FT-IR**

Espectrofotómetro FT-IR MAGNA.700

- **Espectrometría de Masas**

Espectrómetro de masas JEOL, JMS AX505 HA.

Espectrómetro de masas The MStation JMS-700

Espectrómetro de masas Bruker MicroFlex con MALDI-TOF

- **Análisis Elemental**

Analizador elemental Thermo Scientific, Flash 2000.

Referencia: Sulfanilamida.

Valores obtenidos: N= 16.31%, C= 41.83%, H= 4.69% y S=18.64%

Valores teóricos: N= 16.27%, C= 41.81%, H= 4.65% y S=18.57%

. Reactivos y Disolventes.

- **Reactivos.**

- Propargilamina (Aldrich)
- Etilendiamina (Aldrich)
- Acrilato de metilo (Aldrich)
- Trietilamina (Aldrich)
- Cloruro de tionilo (Aldrich)
- N,N-dimetilformamida (DMF) (Aldrich)
- Sílica gel para cromatografía en columna MERK SILICA GEL 60 Å (MALLA 70-230)

- **Disolventes**

Acetato de Etilo (G.I.)

Acetona (G.I.)

Diclorometano (G.I.)

Hexano (G.I.)

Metanol (G.I.)

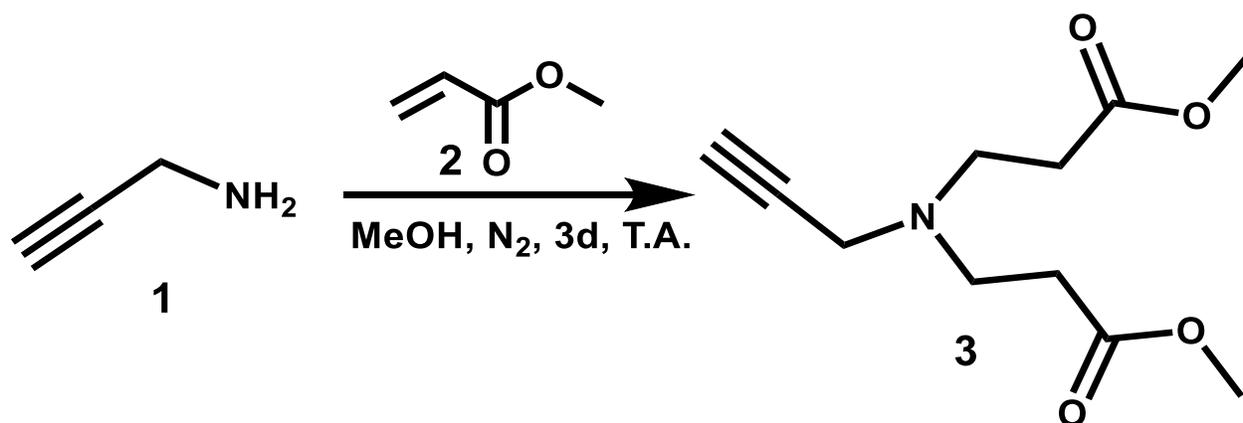
El acetato de etilo, acetona, diclorometano y hexano, fueron purificados por medio de destilación simple empleando como agente desecante hidróxido de potasio (acetato de etilo), cloruro de calcio (acetona y diclorometano).

DESARROLLO EXPERIMENTAL

1. Síntesis de los dendrones

1.1. Síntesis del dendrón G0.5 de propargilamina 3

En un matraz se disolvieron 0.5 ml (7.81 mmol) de propargilamina en 30 ml de MeOH en atmósfera de nitrógeno. Posteriormente se agregaron 7.0 ml (78.1 mmol) de acrilato de metilo y se dejó la mezcla en agitación por 3 días. La reacción fue monitoreada por cromatografía en capa fina (CCF) y cuando se observó la ausencia de propargilamina se paró la reacción. El disolvente y el acrilato de metilo excedente fueron evaporados a presión reducida. Obteniéndose un líquido viscoso de color amarillo-naranja (1.660 g, 7.30 mmol) con un rendimiento de 94 % crudo. (Esquema 1).

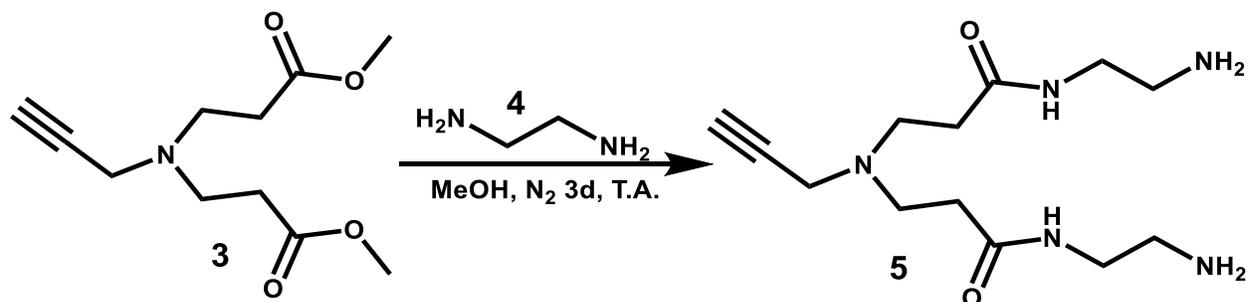


Esquema 1. Síntesis del dendrón G0.5 de propargilamina 3.

Rendimiento: 94% (1.660 g, 7.30 mmol). Líquido amarillo-naranja. **P.E.:** >180°C. **UV-Vis, MeOH, λ (nm):** 209, 287. **FT-IR (Película, cm⁻¹):** 3271, 2953, 2845, 1731, 1436, 1360, 1328, 1257, 1195, 1172, 1122, 1043, 997, 842, 654, 492. **RMN ¹H (300 MHz, CDCl₃), δ_H (ppm):** 3.67 (s, 6H, OCH₃), 3.43 (d, 2H, CH₂, $J=2.4$ Hz), 2.84 (t, 4H, N-CH₂, $J=7.1$ Hz), 2.47 (t, 4H, O=C-CH₂, $J=7.1$ Hz), 2.22 (t, 1H, CH \equiv C, $J=2.4$ Hz). **RMN ¹³C (75 MHz, CDCl₃), δ_C (ppm):** 172.7 (C=O), 78.1 (-C \equiv), 73.4 (CH \equiv), 51.7 (OCH₃), 49.0 (N-CH₂), 41.9 (\equiv C-CH₂), 33.0 (O=C-CH₂). **IE MS (m/z):** 227. **AE:** Calculado para C₁₁H₁₇NO₄: C, 58.14; N, 6.16; H, 7.54 %. Encontrado: C, 57.42; N, 6.07; H, 7.64 %.

1.2. Síntesis del dendrón G1.0 de propargilamina 5

En un matraz se disolvieron 5.0 ml (74.80 mmol) de etilendiamina (EN) en 20.0 ml de MeOH seco y se enfrió a 0°C en baño de hielo por 30 min. Por otro lado, se disolvieron 1.341 g (5.90 mmol) de dendrón G0.5 **3** en 10.0 ml de MeOH. La disolución de dendrón **3** se adicionó gota a gota a la mezcla de reacción bajo atmósfera de nitrógeno y agitación constante por 3 días. La reacción se monitoreo por CCF y cuando se observó la ausencia del dendrón G0.5 **3**, la reacción fue parada, el disolvente y EN excedente se evaporaron a presión reducida. Posteriormente se hicieron lavados con una mezcla de MeOH-tolueno (1:3) para arrastrar la EN remanente, obteniéndose un líquido viscoso naranja (1.656 g, 5.84 mmol) con un rendimiento del 99 % (Esquema 2).

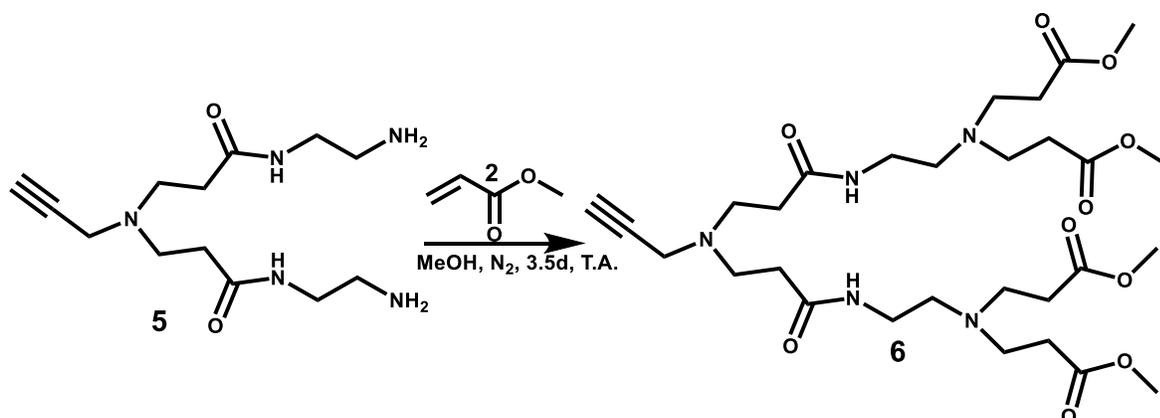


Esquema 2. Síntesis del dendrón G1.0 de propargilamina **5**.

Rendimiento: 99% (1.656 g, 5.84 mmol). Líquido amarillo-naranja. **P.E.:** >250°C. **UV-Vis, MeOH, λ (nm):** 207, 300. **FT-IR (Película, cm⁻¹):** 3277, 3072, 2928, 2847, 1637, 1546, 1434, 1434, 1359, 1330, 1268, 1192, 1122, 1029, 900, 649, 588, 514. **RMN ¹H (300 MHz, CDCl₃), δ _H (ppm):** 7.46 (t, 2H, NH, J = 5.2 Hz), 3.43 (d, 2H, \equiv C-CH₂, J = 2.4 Hz), 3.28 (c, 4H, CH₂-NH, J = 5.8 Hz), 2.84 (t, 4H, N-CH₂, J = 6.3 Hz), 2.81 (t, 4H, O=C-CH₂, J = 5.9 Hz), 2.38 (t, 4H, NH₂-CH₂, J = 6.1 Hz), 2.26 (t, 1H, CH \equiv C, J = 2.3 Hz). **RMN ¹³C (75 MHz, CDCl₃), δ _C (ppm):** 172.3 (C=O), 77.5 (-C \equiv), 73.5 (CH \equiv), 49.4 (N-CH₂), 42.0 (CH₂-NH) 41.4 (\equiv C-CH₂), 41.3 (O=C-CH₂), 33.8 (CH₂-NH₂). **IE MS (m/z):** 284.

1.3. Síntesis del dendrón G1.5 de propargilamina 6

En un matraz se disolvieron 8.6 ml (104.51 mmol) de acrilato de metilo en 30.0 ml de MeOH seco bajo atmósfera de nitrógeno. Por otro lado, se disolvieron 2.202 g (7.76 mmol) de dendrón G1.0 **5** en 20 ml de MeOH seco. La segunda disolución fue adicionada gota a gota a la primera y se dejó en agitación constante por 3.5 días a temperatura ambiente. La reacción fue monitoreada por CCF y cuando se observó la ausencia del dendrón G1.0 **5** la reacción se paró. El disolvente y el acrilato de metilo excedente fueron evaporados a presión reducida. Posteriormente se hicieron lavados con hexano para arrastrar el acrilato de metilo ocluido en la molécula. Obteniéndose un líquido de alta viscosidad de color amarillo oscuro (4.802 g, 7.65 mmol) con un rendimiento de 98 % (Esquema 3).



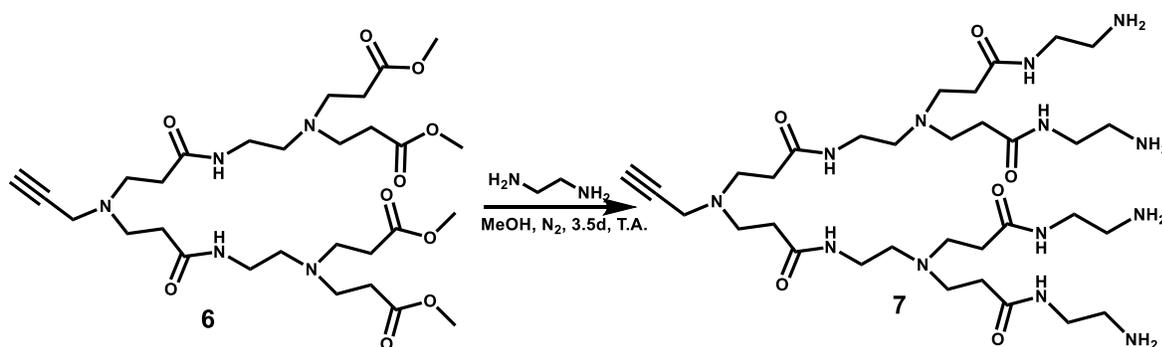
Esquema 3. Síntesis del dendrón G1.5 de propargilamina 6.

Rendimiento: 98% (4.802 g, 7.65 mmol). Líquido amarillo oscuro. **P.E.:** >300°C. **UV-Vis, MeOH, λ (nm):** 244, 262, 281. **FT-IR (Película, cm^{-1}):** 3385, 3290, 2953, 2846, 1734, 1648, 1545, 1438, 1660, 1333, 1262, 1201, 1179, 1127, 1045, 842. **RMN ^1H (400 MHz, $\text{CDCl}_3 + \text{MeOD}$), δ_{H} (ppm):** 7.27 (t, 2H, NH, $J=3.6$ Hz), 3.68 (s, 12H, OCH₃), 3.46 (d, 2H, $\equiv\text{C}-\text{CH}_2$, $J=2.4$ Hz), 3.28 (t, 4H, CH₂-NH, $J=6.0$ Hz), 2.85 (t, 4H, N-CH₂, $J=6.8$ Hz), 2.77 (t, 8H, N-CH₂, $J=6.7$ Hz) 2.55 (t, 4H, CH₂-N, $J=6.0$ Hz), 2.44 (t, 8H, O=C-CH₂, $J=6.7$ Hz), 2.38 (t, 4H, CH₂-C=O, $J=6.1$ Hz), 2.23 (t, 1H, CH \equiv C, $J=2.4$ Hz). **RMN ^{13}C (100 MHz, $\text{CDCl}_3 + \text{MeOD}$), δ_{C} (ppm):** 173.3 (O=C-O) 172.3 (O=C-N), 77.9 (-C \equiv), 73.5 (CH \equiv), 52.8

(CH₂-N), 51.7 (CH₃O), 49.4 (N-CH₂), 49.2 (CH₂-C=O), 41.3 (≡C-CH₂), 37.1 (NH-CH₂), 33.8 (CH₂-N), 32.7 (CH₂-C=O). **IE MS (m/z):** 627.

1.4. Síntesis del dendrón G2.0 de propargilamina 7

En un matraz se disolvieron 5.21 ml (96.24 mmol) de etilendiamina en 15.0 ml de MeOH seco bajo atmósfera de nitrógeno. Por otro lado, se disolvieron 3.260 g (5.2 mmol) de dendrón G1.5 **6** en 30 ml de MeOH seco. La segunda disolución fue agregada gota a gota a la primera y se dejó en agitación por 3.5 días a T. A. La reacción fue monitoreada por CCF hasta la ausencia del dendrón G1.5 **6**. La mezcla de reacción fue evaporada a presión reducida para quitar el MeOH y la etilendiamina remanente. Posteriormente se hicieron lavados con una mezcla de MeOH-tolueno (1:3) para arrastrar la etilendiamina ocluida en la molécula. Obteniéndose un líquido de alta viscosidad de color amarillo obscuro (3.890 g, 5.26 mmol) con un rendimiento de 99 % (Esquema 4).



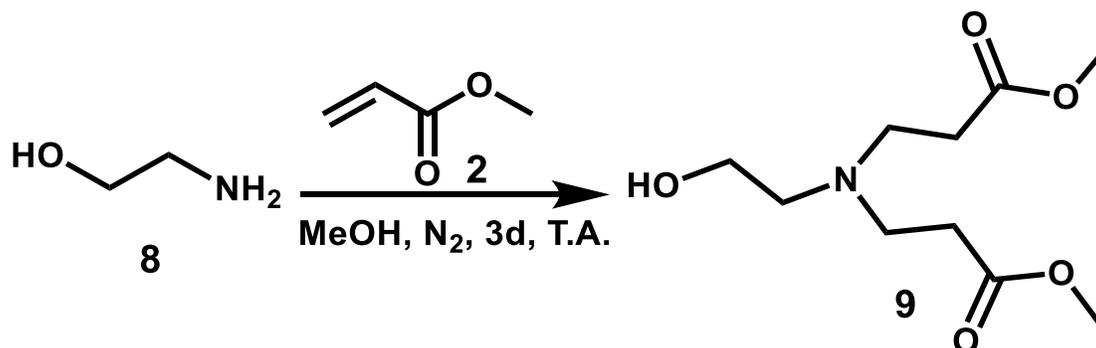
Esquema 4. Síntesis del dendrón G2.0 de propargilamina 7.

Rendimiento: 99% (3.890 g, 5.26 mmol). Líquido amarillo obscuro. **P.E.:** >350°C. **UV-Vis, MeOH, λ (nm):** 209, 253, 280. **FT-IR (Película, cm⁻¹):** 3284, 3082, 2940, 2850, 2102, 1644, 1556, 1463, 1360, 1293, 1250, 1199, 1152, 1127, 1036, 959. **RMN ¹H (500 MHz, MeOD), δ_H (ppm):** 8.09 (sa, 4H, NH), 7.91 (sa, 2H, NH), 3.46 (sa, 2H, ≡C-CH₂), 3.25 (sa, 16H, CH₂-NH), 2.82 (sa, 12H, CH₂), 2.72 (sa, 8H, CH₂), 2.58 (sa, 4H, CH₂), 2.38 (sa, 8H,

CH₂), 2.21 (t, 1H, CH≡C, *J*= 2.4 Hz). **RMN ¹³C (125 MHz, MeOD), δ_c (ppm):** 175.2 (O=C-N) 174.8 (O=C-N), 78.3 (-C≡), 75.3 (CH≡), 51.1 (CH₂), 50.6 (CH₂), 49.4 (CH₂) 46.2 (CH₂), 43.0 (CH₂), 42.2 (CH₂), 42.0 (CH₂), 38.6 (CH₂), 34.7 (CH₂). **FAB⁺ MS (m/z):** 740.

1.5. Síntesis del dendrón G0.5 de etanolamina 9

En un matraz se disolvieron 1.0 ml (16.6 mmol) de etanolamina en 40 ml de MeOH bajo atmósfera de nitrógeno. Posteriormente se adicionaron 10.0 ml (111.6 mmol) de acrilato de metilo y se dejó la mezcla en agitación por 3 días. La reacción fue monitoreada por CCF y cuando se observó la ausencia de propargilamina se paró la reacción. La mezcla de reacción fue evaporada a presión reducida para quitar el MeOH y el acrilato de metilo excedente. Obteniéndose un líquido viscoso de color amarillo (3.795 g, 16.3 mmol) con un rendimiento de 97% crudo. (Esquema 5).

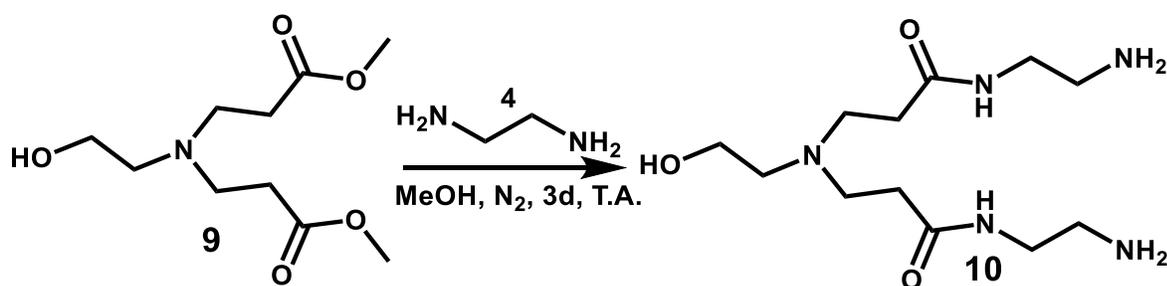


Esquema 5. Síntesis del dendrón G0.5 de etanolamina 9.

Rendimiento: 97% (3.795 g, 16.3 mmol). Líquido amarillo. **P.E.:** >180°C. **UV-Vis, MeOH, λ (nm):** 212, 280. **FT-IR (Película, cm⁻¹):** 3486, 2953, 2834, 1729, 1437, 1360, 1326, 1254, 1196, 1173, 1033, 868, 841, 783, 698. **RMN ¹H (300 MHz, CDCl₃), δ_H (ppm):** 3.61 (s, 6H, OCH₃), 3.51 (t, 2H, CH₂-O, *J*= 5.1 Hz), 2.87 (s, 1H, OH), 2.73 (t, 4H, CH₂-N, *J*= 6.7 Hz), 2.53 (t, 4H, CH₂-N, *J*= 5.1 Hz), 2.40 (t, 4H, O=C-CH₂, *J*= 6.7 Hz). **RMN ¹³C (75 MHz, CDCl₃), δ_c (ppm):** 176.0 (C=O), 59.1 (CH₂-O), 55.9 (CH₂-N), 51.8 (OCH₃), 49.2 (N-CH₂), 32.5 (O=C-CH₂). **IE MS (m/z):** 233.

1.6. Síntesis del dendrón G1.0 de etanolamina 10

En un matraz se disolvieron 6.0 ml (74.8 mmol) de etilendiamina (EN) en 30.0 ml de MeOH seco y se enfrió a 0°C en baño de hielo por 30 min. Por otro lado, se disolvieron 2.015 g de dendrón G0.5 **9** en 10.0 ml de MeOH. La disolución de dendrón **9** se adicionó gota a gota a mezcla de reacción bajo atmósfera de nitrógeno. La reacción mantuvo por 3 días, la reacción fue monitoreada por de CCF hasta que se observó la ausencia del dendrón G0.5 **9**. La reacción se paró y la mezcla de reacción fue evaporada a presión reducida para quitar el MeOH y EN excedente. Posteriormente se hicieron lavados con una mezcla de MeOH-tolueno (1:3) para arrastrar la EN remanente en el producto de reacción. Obteniéndose un líquido viscoso naranja (3.380 g, 8.65 mmol) con un rendimiento del 95 % (Esquema 6).

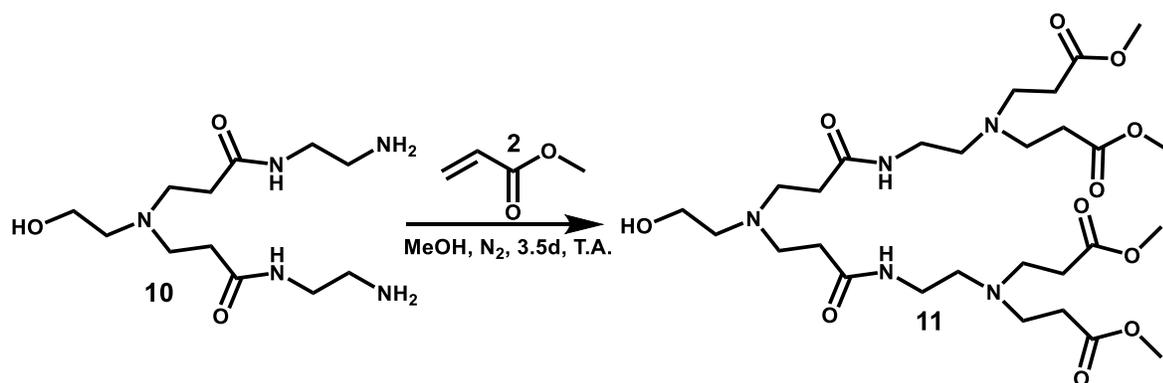


Esquema 6. Síntesis del dendrón G1.0 de etanolamina **10**.

Rendimiento: 95% (3.380 g, 8.65 mmol). Líquido amarillo. **P.E.:** >250°C. **UV-Vis, MeOH, λ (nm):** 205. **FT-IR (Película, cm⁻¹):** 3228, 3077, 2928, 2865, 1635, 1549, 1436, 1357, 1285, 1245, 1193, 1129, 1030, 947, 865, 584, 521. **RMN ¹H (300 MHz, CDCl₃), δ_H (ppm):** 7.79 (t, 2H, NH, $J=5.4$ Hz), 3.61 (t, 2H, O-CH₂, $J=4.8$ Hz), 3.27 (c, 4H, CH₂-NH, $J=5.6$ Hz), 2.81 (t, 4H, O=C-CH₂, $J=6.2$ Hz), 2.75 (t, 4H, N-CH₂, $J=6.2$ Hz), 2.62 (s, 4H, NH₂), 2.56 (t, 2H, N-CH₂, $J=4.8$ Hz), 2.38 (t, 4H, CH₂-NH₂, $J=5.6$ Hz). **RMN ¹³C (75 MHz, CDCl₃), δ_C (ppm):** 173.0 (C=O), 58.9 (CH₂-O), 56.47 (CH₂-N), 50.4 (N-CH₂), 41.8 (CH₂-NH) 41.3 (O=C-CH₂), 41.3 (O=C-CH₂), 34.0 (CH₂-NH₂). **IE MS (m/z):** 290.

1.7. Síntesis del dendrón G1.5 de etanolamina 11

En un matraz se disolvieron 17.0 ml (182.42 mmol) de acrilato de metilo en 25.0 ml de MeOH seco bajo atmósfera de nitrógeno. Por otro lado, se disolvieron 3.826 g (13.22 mmol) de dendrón G1.0 **10** en 30 ml de MeOH seco. La segunda disolución fue agregada gota a gota a la primera y se dejó en agitación por 3.5 días a T. A. La reacción fue monitoreada por CCF hasta que se dejó de observar el dendrón G1.0 **10**. La mezcla de reacción fue evaporada a presión reducida para quitar el MeOH y el acrilato de metilo remanente. Posteriormente se hicieron lavados con hexano para arrastrar el acrilato de metilo ocluido en la molécula. Obteniéndose un líquido de alta viscosidad de color amarillo claro (7.005 g, 11.05 mmol) con un rendimiento de 98 % (Esquema 7).

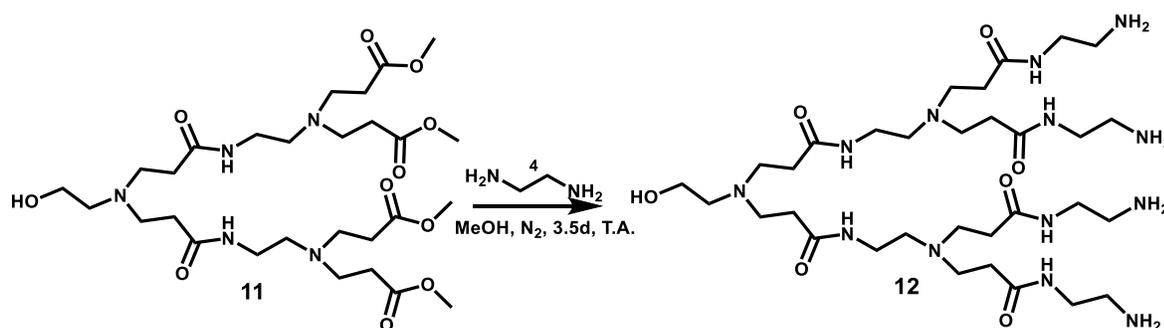


Esquema 7. Síntesis del dendrón G1.5 de etanolamina **11**.

Rendimiento: 98% (7.005 g, 11.05 mmol). Líquido amarillo obscuro. **P.E.:** >300°C. **UV-Vis, MeOH, λ (nm):** 245, 300, 363. **FT-IR (Película, cm^{-1}):** 3384, 3090, 2953, 2847, 1732, 1644, 1553, 1439, 1362, 1261, 1200, 1129, 1045, 842. **RMN ¹H (400 MHz, CDCl₃ + MeOD), δ_{H} (ppm):** 3.64 (s, 12H, OCH₃), 3.58 (sa, 2H, OCH₂), 3.26 (sa, 8H, CH₂-N), 2.72 (sa, 12H, CH₂), 2.55 (sa, 2H, N-CH₂), 2.51 (sa, 4H, CH₂-N), 2.4 (sa, 4H, O=C-CH₂), 2.34 (sa, 4H, CH₂-N). **RMN ¹³C (100 MHz, CDCl₃ + MeOD), δ_{C} (ppm):** 173.9 (O=C-N) 173.3 (O=C-O), 59.3 (O-CH₂), 55.8 (CH₂-N), 52.9 (CH₂-NH), 51.7 (CH₃O), 49.7 (N-CH₂), 49.3 (CH₂-C=O), 37.2 (N-CH₂), 33.9 (CH₂-N), 32.6 (CH₂-C=O). **IE MS (m/z):** 634.

1.8. Síntesis del dendrón G2.0 de etanolamina 12

En un matraz se disolvieron 11.0 ml (164.54 mmol) de etilendiamina en 15.0 ml de MeOH seco bajo atmósfera de nitrógeno. Por otro lado, se disolvieron 6.546 g (10.33 mmol) de dendrón G1.5 **11** en 40.0 ml de MeOH seco. La segunda disolución fue agregada gota a gota a la primera y se dejó en agitación por 3.5 días a T. A. La reacción fue monitoreada por CCF hasta que se dejó de observar el dendrón G1.5 **11**. La mezcla de reacción fue evaporada a presión reducida para quitar el MeOH y la etilendiamina remanente. Posteriormente se hicieron lavados con una mezcla de MeOH-tolueno (1:3) para arrastrar la etilendiamina ocluida en la molécula. Obteniéndose un líquido de alta viscosidad de color amarillo oscuro (7.688 g, 10.31 mmol) con un rendimiento de 99 % (Esquema 8).



Esquema 8. Síntesis del dendrón G2.0 de etanolamina **12**.

Rendimiento: 99% (7.688 g, 10.31 mmol). Líquido amarillo oscuro. **P.E.:** >350°C. **UV-Vis, MeOH, λ (nm):** 244, 308, 369. **FT-IR (Película, cm⁻¹):** 3383, 3300, 3099, 2944, 2870, 1639, 1562, 1462, 1440, 1362, 1293, 1199, 1121, 1055, 1038, 931. **RMN ¹H (500 MHz, MeOD), δ_H (ppm):** 8.09 (sa, 4H, NH), 3.64 (sa, 2H, OCH₂), 3.29 (sa, 4H, CH₂-N), 3.25 (sa, 8H, CH₂-N), 2.85 (sa, 4H, CH₂-N), 2.79 (sa, 8H, N-CH₂), 2.72 (sa, 8H, NH-CH₂), 2.62 (sa, 2H, CH₂-N), 2.58 (sa, 4H, O=C-CH₂, $J = 2.4$ Hz), 2.37 (sa, 12H, O=CH₂, NH-CH₂). **RMN ¹³C (125 MHz, MeOD), δ_C (ppm):** 175.1 (O=C-N) 174.8 (O=C-N), 60.5 (OCH₂), 56.6 (CH₂-N), 53.4(N-CH₂), 51.1 (N-CH₂), 46.3 (O=C-CH₂), 43.0 (CH₂-NH₂) 42.0 (NH-CH₂), 36.5 (CH₂-N), 34.8 (NH-CH₂), 42.0 (CH₂), 34.5 (O=C-CH₂). **FAB⁺ MS (m/z):** 746.

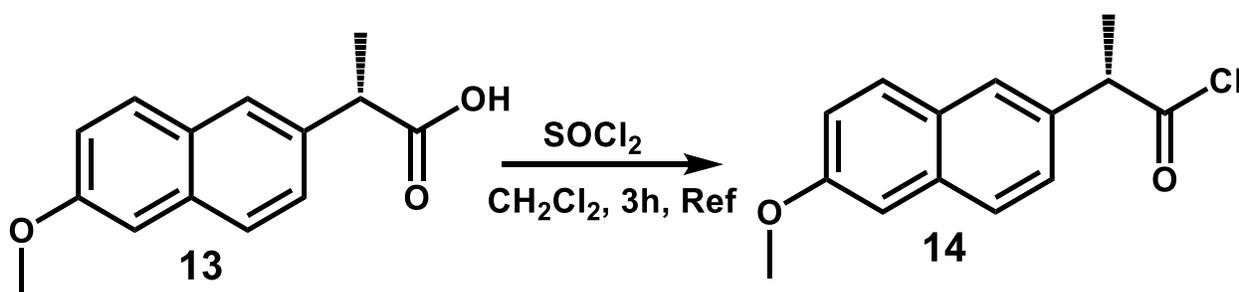


2. Síntesis de los conjugados dendriméricos con Naproxeno

2.1. Reacción de formación del cloruro de ácido del naproxeno 14



Se inició con la extracción del Naproxeno de tabletas comerciales (marca Farmacias del ahorro) de 500 mg. Las tabletas fueron trituradas y se hizo una extracción líquido-sólido usando metanol. Se filtró y evaporó el metanol obteniéndose el Naproxeno libre. En un matraz se colocaron 2.001 g de Naproxeno en 3.0 ml de diclorometano seco. Posteriormente se adicionaron 4.0 ml de Cloruro de tionilo; la reacción se dejó en agitación a reflujo por 3 horas. La reacción se monitoreó por CCF hasta que se observó la ausencia del naproxeno. La reacción fue parada adicionando 10.0 ml de diclorometano. La mezcla de reacción fue lavada y evaporada a presión reducida con diclorometano para así sacar todo el exceso de cloruro de tionilo y el cloruro de hidrógeno procedente de la reacción. Obteniéndose un sólido amarillo claro en altos rendimientos (Esquema 9). Tan pronto como el derivado clorado fue obtenido se usó en las siguientes reacciones.



Esquema 9. Reacción de formación del cloruro de ácido del naproxeno **14**.

- **Naproxeno ácido**

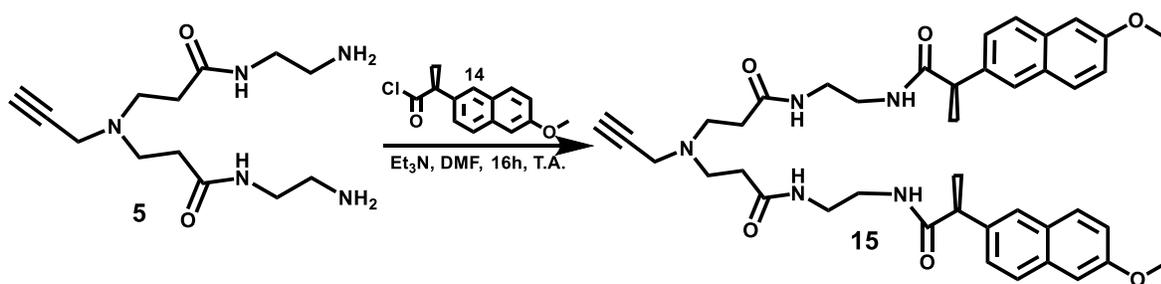
RMN ¹H (400 MHz, MeOD), δ_H (ppm): 7.69 (m, 3H, Ar), 7.40 (dd, 1H, Ar, *J*= 8.55, 1.84 Hz), 7.18 (d, 1H, Ar, *J*= 2.52 Hz), 7.10 (dd, 1H, Ar, *J*= 8.97, 2.54 Hz), 3.87 (s, 3H, CH₃), 3.83 (c, 1H, CH, *J*= 7.14 Hz), 1.52 (d, 3H, O-CH₃, *J*= 7.14 Hz). **RMN ¹³C (100 MHz, MeOD), δ_c (ppm):** 178.5 (O=C) 159.1 (A_{ri}ps_o-O), 137.5 (A_{ri}ps_o), 133.9 (A_{ri}ps_o), 130.4 (A_{ri}ps_o), 130.1 (Ar), 128.9 (Ar), 127.2 (Ar), 126.9 (Ar), 119.9 (Ar), 106.6 (Ar), 55.6 (CH₃-O), 46.5 (CH), 19.3 (CH₃).

- **Cloruro de ácido del naproxeno**

RMN ^1H (400 MHz, CDCl_3), δ_{H} (ppm): 7.74 (m, 3H, Ar), 7.34 (dd, 1H, Ar, $J=8.46, 1.91$ Hz), 7.16 (d, 1H, Ar, $J=2.56$ Hz), 7.11 (dd, 1H, Ar, $J=11.6, 2.53$ Hz), 4.24 (c, 1H, CH, $J=7.05$ Hz) 3.92, (s, 3H, O- CH_3), 1.67 (d, 3H, CH_3 , $J=7.05$ Hz). **RMN ^{13}C (100 MHz, CDCl_3), δ_{C} (ppm):** 177.2 (O=C) 157.8 ($\text{Ar}_{\text{ipso-O}}$), 136.2 (Ar_{ipso}), 133.9 (Ar_{ipso}), 129.1 (Ar_{ipso}), 128.9 (Ar), 126.9 (Ar), 125.9 (Ar), 125.6 (Ar), 54.4 ($\text{CH}_3\text{-O}$), 45.3 (CH), 18.7 (CH_3).

2.2. Síntesis del conjugado dendrimérico G1.0 de propargilamina con naproxeno 15

En un matraz se disolvieron 1.252 g (4.42 mmol) del dendrón G1.0 de propargilamina **5** en 15.0 ml de DMF anhidra con 1.66 ml (11.90 mmol) de trietilamina. Se colocó en agitación y en baño de hielo por 30 min. Por otra parte, el cloruro del naproxeno 2.740 g (11.90 mmol) disuelto en 10.0 ml de DMF se adicionó lentamente a la mezcla de reacción. Se dejó en agitación a T.A. por 15 h. La reacción fue monitoreada por CCF y se paró cuando se observó la ausencia del cloruro de naproxeno. La mezcla fue filtrada. Posteriormente el disolvente DMF y la trietilamina remanente se evaporaron a presión reducida. Se prosiguió haciendo lavados con agua para quitar sales ocluidas y dendrón sin reaccionar; finalmente, se hicieron lavados con acetato de etilo para quitar el exceso de naproxeno no reaccionante. Obteniéndose un sólido café claro (3.120 g, 4.40 mmol) con un rendimiento de 99 % (Esquema 10).



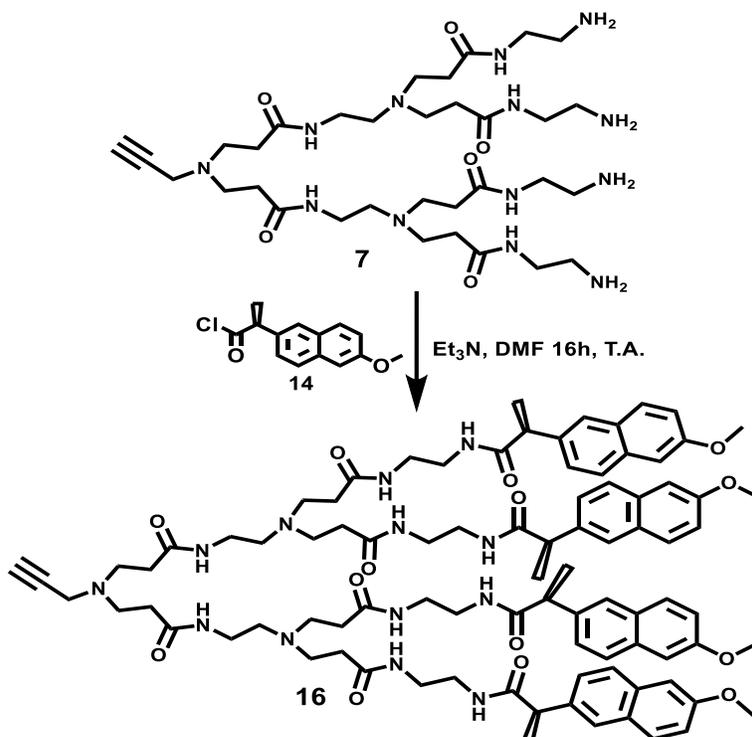
Esquema 10. Síntesis del conjugado dendrimérico G1.0 de propargilamina con naproxeno **15**.

Rendimiento: 99% (3.120 g, 4.40 mmol). Sólido café claro. **P.F.:** 160°C. **UV-Vis, MeOH,** λ (nm): 232, 263, 273, 317, 331. **FT-IR (Pastilla KBr, cm^{-1}):** 3289, 3062, 2937, 2838, 1918, 1648, 1606, 1550, 1450, 1389, 1369, 1264, 1235, 1213, 1163, 1122, 1029, 926,

892, 856, 813, 744, 690, 662, 474. **RMN ^1H (500 MHz, MeOD), δ_{H} (ppm):** 7.68 (m, 2H+6H, Ar+NH), 7.40 (dd, 2H, Ar, $J= 8.49$ y 1.75 Hz), 7.15 (d, 2H, Ar, $J= 2.30$ Hz), 7.08 (dd, 2H, Ar, $J= 8.98$ y 2.50 Hz), 3.85 (s, 6H, OCH₃), 3.73 (c, 2H, CH_{NPX}, $J= 7.06$), 3.28 (sa, 2H, $\equiv\text{C-CH}_2$), 3.25 (m, 8H, NH-CH₂), 2.62 (m, 5H, $\equiv\text{CH+CH}_2\text{-NH}$), 2.17 (t, 4H, O=C-CH₂, $J= 6.51$ Hz), 1.49 (d, 6H, CH₃ _{NPX}, $J= 7.10$ Hz). **RMN ^{13}C (125 MHz, MeOD), δ_{C} (ppm):** 177.6 (C=O), 174.6 (C=O), 159.0 (Ar), 138.0 (Ar_{ipso}), 135.1 (Ar_{ipso}), 130.34 (Ar_{ipso}), 130.22 (Ar), 128.2 (Ar), 127.2 (Ar), 126.4 (Ar), 119.9 (Ar), 77.7 (-C \equiv), 75.7 (CH \equiv), 55.7 (OCH₃), 50.3 (O=C-CH₂), 49.8 (NH-CH₂), 47.5 (CH_{NPX}) 41.6 ($\equiv\text{C-CH}_2$), 40.0 (NH-CH₂), 39.8 (CH₂-NH), 18.2 (CH₃ _{NPX}). **FAB⁺ MS (m/z):** 708.

2.3. Síntesis del conjugado dendrimérico G2.0 de propargilamina con naproxeno 16

En un matraz se disolvieron 0.384 g (0.52 mmol) del dendrón G2.0 de propargilamina **7** en 15.0 ml de DMF anhidra con 0.3 ml (2.15 mmol) de trietilamina. Se colocó en agitación en baño de hielo por 30 min. Por otra parte, el cloruro del naproxeno 0.560 g (2.43 mmol) disuelto en 10.0 ml de DMF se adicionó lentamente a la mezcla de reacción. Pasado el tiempo de reacción se lavó con diclorometano y se disolvieron en 10.0 ml de DMF para ser añadido, lentamente a la mezcla de reacción. Se dejó en agitación a T.A. por 15 h. La reacción fue monitoreada por CCF y cuando se observó la ausencia del cloruro de naproxeno se paró la reacción. La mezcla se filtró. Posteriormente se evaporaron el disolvente DMF y la trietilamina remanente. Se prosiguió haciendo lavados con agua para quitar sales ocluidas y dendrón sin reaccionar. Finalmente, se hicieron lavados con acetato de etilo para quitar el exceso de naproxeno no reaccionante. Obteniéndose un sólido café (0.624 g, 0.39 mmol) con un rendimiento de 96 % (Esquema 11)

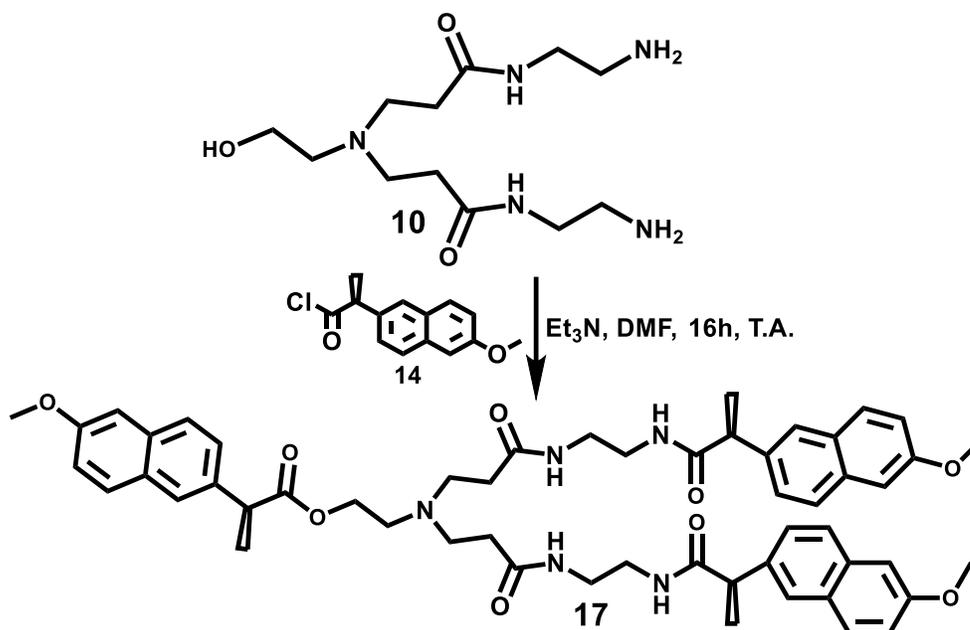


Esquema 11. Síntesis del conjugado dendrimérico G2.0 de propargilamina con naproxeno **16**.

Rendimiento: 96% (0.624 g, 0.39 mmol). Sólido café. **P.F.:** >250°C. **UV-Vis, MeOH, λ (nm):** 234, 273, 332. **FT-IR (Pastilla KBr, cm^{-1}):** 3280, 3068, 2970, 2935, 2851, 1650, 1549, 1458, 1389, 1370, 1255, 1214, 1122, 1036, 986, 962, 925, 891, 855, 812, 673, 632, 591, 563, 520, 477, 444. **RMN ^1H (500 MHz, DMSO- D_6), δ_{H} (ppm):** 8.26 (sa, 8H, NH), 7.73 (m, 12H, Ar), 7.46 (d, 4H, Ar, $J=8.02$ Hz), 7.26 (s, 4H, Ar), 7.12 (d, 4H, Ar, $J=6.33$ Hz), 3.83 (s, 12H, OCH₃), 3.75 (c, 4H, CH_{NPX}, $J=7.0$ Hz), 3.38 (sa, 12H, CH₂), 3.09 (sa, 20H, CH₂), 2.65 (sa, 8H, CH₂), 2.24 (sa, 7H, CH₂), 1.39 (d, 12H, CH₃ NPX, $J=5.7$ Hz). **RMN ^{13}C (125 MHz, DMSO- D_6), δ_{C} (ppm):** 173.6 (O=C-N), 171.3 (O=C-N), 170.4 (O=C-N), 156.9 (Ar_{ipso}), 137.4 (Ar_{ipso}), 133.1 (Ar_{ipso}), 129.1 (Ar_{ipso}), 128.4 (Ar), 126.6 (Ar), 125.3 (Ar), 118.5 (Ar), 105.7 (Ar), 78.8 (-C \equiv), 75.9 (CH \equiv), 55.2 (OCH₃), 49.4 (CH₂), 49.2 (CH₂), 45.1 (CH_{NPX}), 42.5 (CH₂), 41.1 (CH₂), 38.4 (CH₂), 33.5 (CH₂), 18.5 (CH₃ NPX). **MALDI-TOF MS (m/z):** 1588.6.

2.4. Síntesis del conjugado dendrimérico G1.0 de etanolamina con naproxeno 17

En un matraz se disolvieron 0.615 g (2.12 mmol) del dendrón G1.0 de etanolamina **10** en 12.0 ml de DMF anhidra con 1.2 ml (8.60 mmol) de trietilamina. Se puso en agitación en baño de hielo por 30 min. Por otra parte, el cloruro del naproxeno 1.601 g (6.95 mmol) disuelto en 10.0 ml de DMF se adicionó lentamente a la mezcla de reacción. Se dejó en agitación a T.A. por 16 h. La reacción fue monitoreada por CCF y se paró cuando se observó la ausencia del cloruro de naproxeno. La mezcla fue filtrada. Posteriormente se evaporaron el disolvente DMF y la trietilamina remanente. Se prosiguió haciendo lavados con agua para quitar sales ocluidas y dendrón sin reaccionar; finalmente, se hicieron lavados con acetato de etilo para quitar el exceso de naproxeno no reaccionante. Obteniéndose un sólido café claro (1.962 g, 2.12 mmol) con un rendimiento de 99 % (Esquema 12).



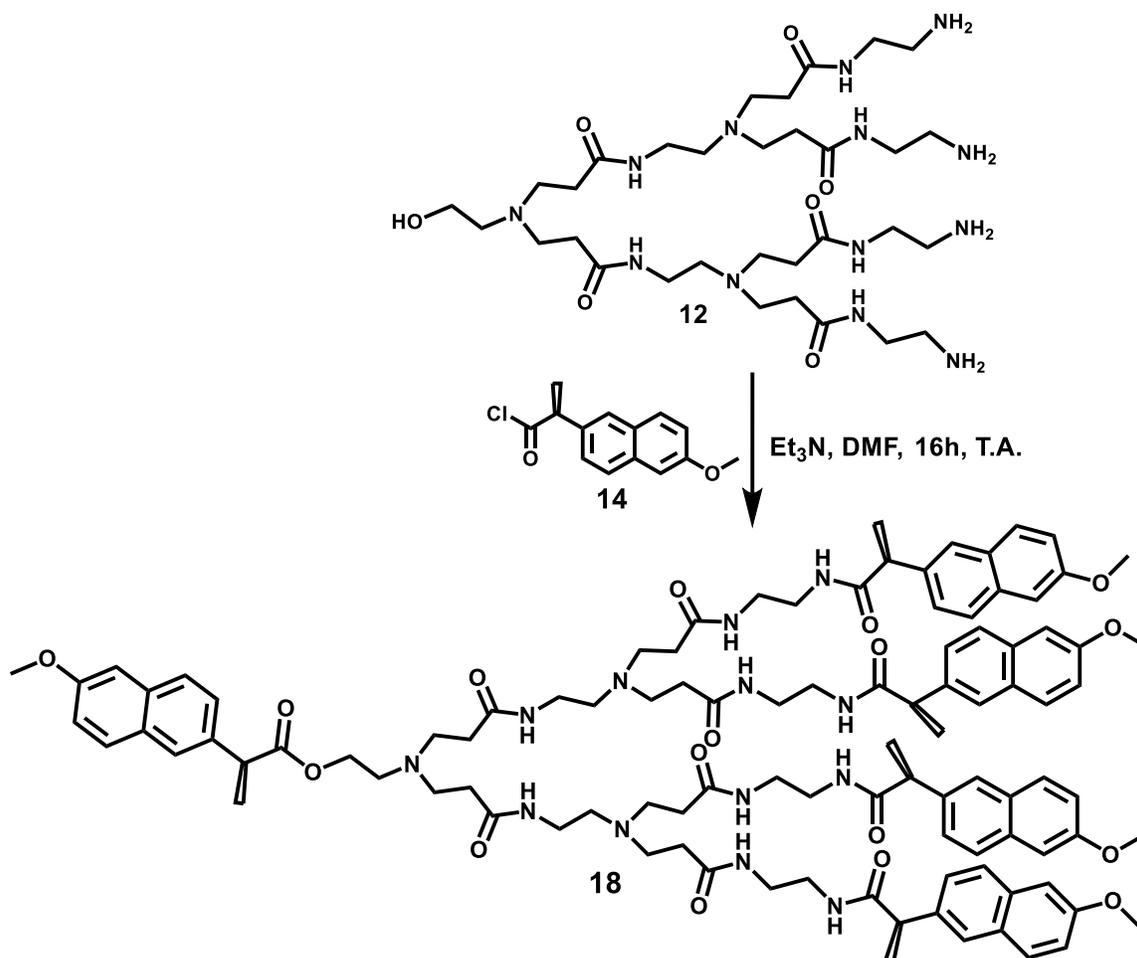
Esquema 12. Síntesis del conjugado dendrimérico G1.0 de etanolamina con naproxeno

17.

Rendimiento: 99% (1.962 g, 2.12 mmol). Sólido café claro. **P.F.:** >200°C. **UV-Vis, CHCl₃, λ (nm):** 245, 274, 319, 333. **FT-IR (Pastilla KBr, cm⁻¹):** 3282, 3063, 2937, 2840, 1725, 1652, 1605, 1546, 1458, 1391, 1368, 1267, 1218. 1065, 1029, 294, 890, 856, 811, 681, 624, 583, 477. **RMN ¹H (500 MHz, CDCl₃), δ_H (ppm):** 7.60 (sa, 12H, Ar+NH), 7.37 (sa, 4H, Ar), 7.06 (sa, 8H, Ar), 3.85 (m, 12H, OCH₃+CH), 3.70 (sa, 2H, OCH₂), 3.16 (sa, 14H, CH₂) 2.97 (m, 2H, NCH₂), 1.46 (sa, 9H, CH₃). **RMN ¹³C (125 MHz, CDCl₃), δ_C (ppm):** 177.10 (O=C-N), 175.57 (O=C-O), 175.49 (O=C-O), 157.53 (OAr_{ipso}), 157.53 (OAr_{ipso}), 136.89 (Ar_{ipso}), 136.96 (Ar_{ipso}), 135.84 (Ar_{ipso}), 133.70 (Ar_{ipso}), 133.65 (Ar_{ipso}), 129.26 (Ar), 129.22 (Ar), 128.85 (Ar), 128.81 (Ar), 127.11 (Ar), 127.00 (Ar), 126.36 (Ar), 126.18 (Ar), 126.01 (Ar), 125.92 (Ar), 118.99 (Ar), 118.93 (Ar), 105.58 (Ar), 56.92 (OCH₂), 55.31 (OCH₃), 55.28 (OCH₃), 50.18 (CH₂N), 46.29 (CH₂), 45.89 (CH_{NPX}), 45.89 (CH_{NPX}), 39.73 (CH₂-N), 38.99 (CH₂-C=O), 18.47 (CH₃ NPX), 18.47 (CH₃ NPX). **MALDI-TOF MS (m/z):** 926.4.

2.5. Síntesis del conjugado dendrimérico G2.0 de etanolamina con naproxeno 18

En un matraz se disolvieron 0.300 g (0.40 mmol) del dendrón G2.0 de etanolamina **12** en 16.0 ml de DMF anhidra con 0.42 ml (3.01 mmol) de trietilamina. Se puso en agitación en baño de hielo por 30 min. Por otra parte, el cloruro del naproxeno 0.690 g (3.00 mmol) disuelto en 10.0 ml de DMF se adicionó lentamente a la mezcla de reacción. Se dejó en agitación a T.A. por 18 h. La reacción fue monitoreada por CCF y cuando se observó la ausencia del cloruro de naproxeno se paró la reacción. La mezcla fue filtrada. Posteriormente a presión reducida se evaporaron el disolvente DMF y la trietilamina remanente. Se prosiguió haciendo lavados con agua para quitar sales ocluidas y dendrón sin reaccionar; finalmente, se hicieron lavados con acetato de etilo para quitar el exceso de naproxeno no reaccionante. Obteniéndose un sólido café (0.678 g, 0.38 mmol) con un rendimiento de 94 % (Esquema 13).



Esquema 13. Síntesis del conjugado dendrimérico G2.0 de etanolamina con naproxeno **18**.

Rendimiento: 94% (0.678 g, 0.38 mmol). Sólido café. **P.F.:** >300°C. **UV-Vis, CHCl₃, λ (nm):** 246, 274, 319, 333. **FT-IR (Pastilla KBr, cm⁻¹):** 3285, 3065, 2969, 2937, 2842, 1650, 1607, 1546, 1458, 1387, 1266, 1220, 1123, 1065, 1030, 925, 889, 856, 812, 638, 479. **RMN ¹H (500 MHz, CDCl₃), δ_H (ppm):** 7.99 (sa, 4H, NH), 7.62 (sa, 15H, Ar), 7.37 (sa, 5H, Ar), 7.03 (sa, 10H, Ar), 4.07 (sa, 2H, OCH₂), 3.8 (sa, 15H, OCH₃), 3.69 (sa, 5H, CH_{NPX}), 3.20 (sa, 30H, CH₂), 2.97 (sa, 12H, CH₂), 2.28 (sa, 8H, CH₂), 1.48 (sa, 15H, CH₃). **RMN ¹³C (125 MHz, CDCl₃), δ_c (ppm):** 177.01 (O=C-N), 175.99 (O=C-O), 175.51 (O=C-O), 157.71 (OAr_{ipso}), 157.57 (OAr_{ipso}), 136.81 (Ar_{ipso}), 133.72 (Ar_{ipso}), 133.56 (Ar_{ipso}), 129.21 (Ar_{ipso}), 128.94 (Ar), 128.84 (Ar), 127.26 (Ar), 127.09 (Ar), 126.39 (Ar), 126.32

(Ar), 126.29 (Ar), 125.89 (Ar), 119.12 (Ar), 119.00 (Ar), 105.59 (Ar), 62.019 (OCH₂), 55.30 (OCH₃), 59.47 (CH₂), 56.89 (CH₂), 55.286 (OCH₃), 56.89 (CH₂), 50.16 (CH₂), 46.67 (CH_{NPX}), 46.39 (CH_{NPX}), 45.17 (CH₂), 39.17 (CH₂), 18.52 (CH₃ NPX), 18.31 (CH₃ NPX).

MALDI-TOF MS (m/z): 1809.8.

DISCUSIÓN DE RESULTADOS

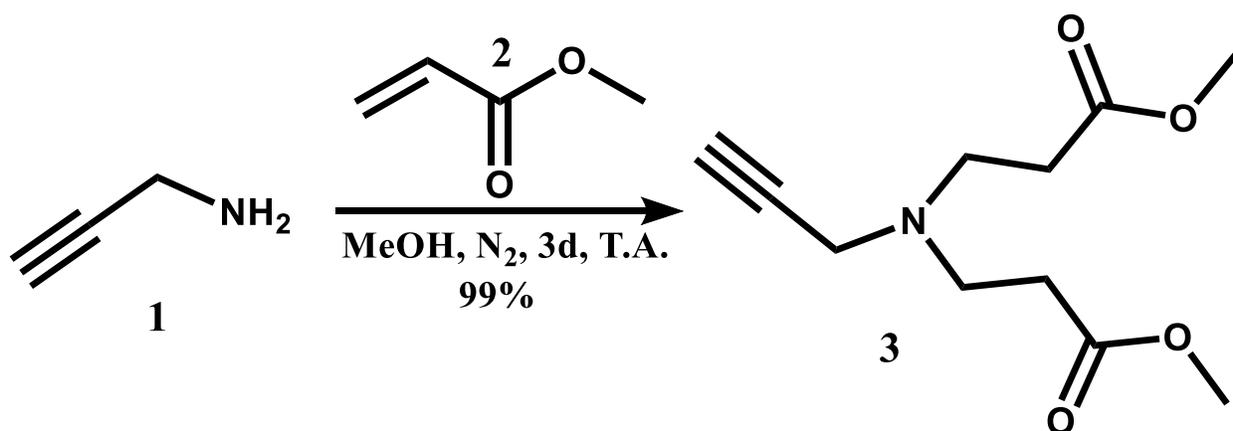
1. Síntesis de Dendrones

La síntesis de dendrímeros consiste en una secuencia repetida de reacciones donde el grupo funcional es capaz de reaccionar de tal forma que aparezca el mismo grupo funcional, pero en doble cantidad mediante una secuencia de reacciones de activación y acoplamiento. Las capas internas o generaciones contienen unidades repetitivas de N-(2-aminoetil)acrilamida. La etapa de la adición de Michael lleva a una generación intermedia por lo que hasta después de la aminólisis es que se obtiene la generación completa. Siguiendo esta misma secuencia es que en presente trabajo de investigación se inició con la síntesis de los dendrones tipos PAMAM.

Síntesis de los dendrones de G1.0 y G2.0 tipo PAMAM a partir de la propargilamina.

1.1. Síntesis del dendrón G0.5 de propargilamina 3 (Reacción de Adición de Michael)

El compuesto **3** fue obtenido mediante una reacción de adición de Michael, en la cual la propargilamina **1** y el acrilato de metilo **2** se disolvieron en metanol bajo atmósfera de nitrógeno con agitación constante por 3 días. (Esquema 1).



Esquema 1. Síntesis del dendrón G0.5 de propargilamina 3.

El compuesto **3** fue caracterizado por RMN de ^1H (figura 1), en donde se observa: un singlete a 3.67 ppm correspondiente a los O-metilos del éster (7); un doblete a 3.43 ppm con constante de acoplamiento $J= 2.4$ Hz correspondiente al protón del CH_2 unido al alquino terminal (3); un triplete a 2.84 ppm con constante de acoplamiento $J= 7.1$ Hz correspondiente a los protones de los CH_2 unidos a nitrógeno (4); un triplete a 2.47 ppm con constante de acoplamiento $J= 7.1$ Hz correspondiente a los protones de los CH_2 unidos a los carbonilos de éster (5), y un triplete a 2.22 ppm con constante de acoplamiento $J= 2.4$ Hz correspondiente al protón del CH del alquino terminal (1).

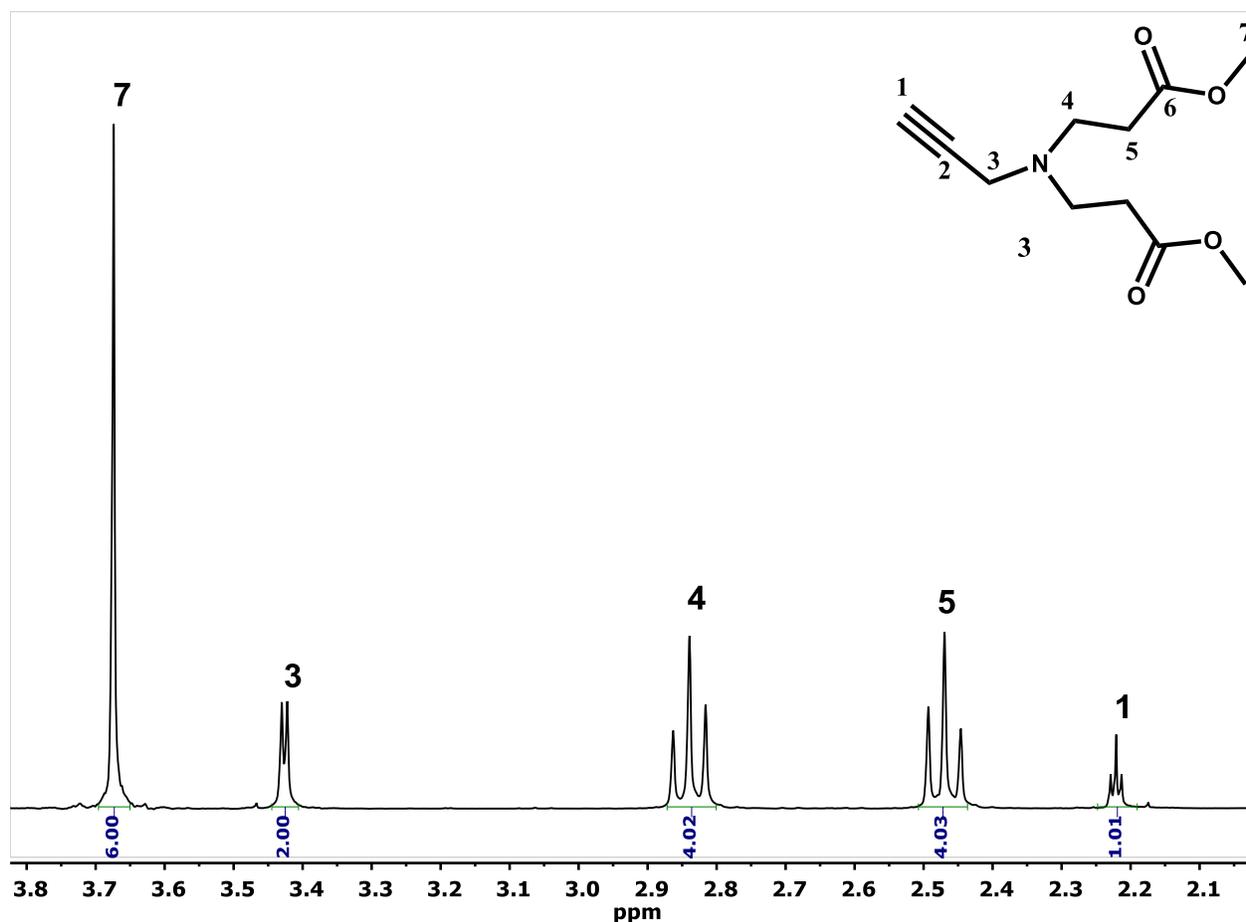


Figura 1. Espectro de RMN de ^1H del compuesto **3**.

Además, el compuesto **3** fue caracterizado por espectrometría de masas de impacto electrónico, IE (figura 2). En el espectro se observa el ión molecular $[\text{M}+1]^+$ con

una relación masa/carga de 228 m/z correspondiente al peso molecular del compuesto más un hidrógeno **3**.

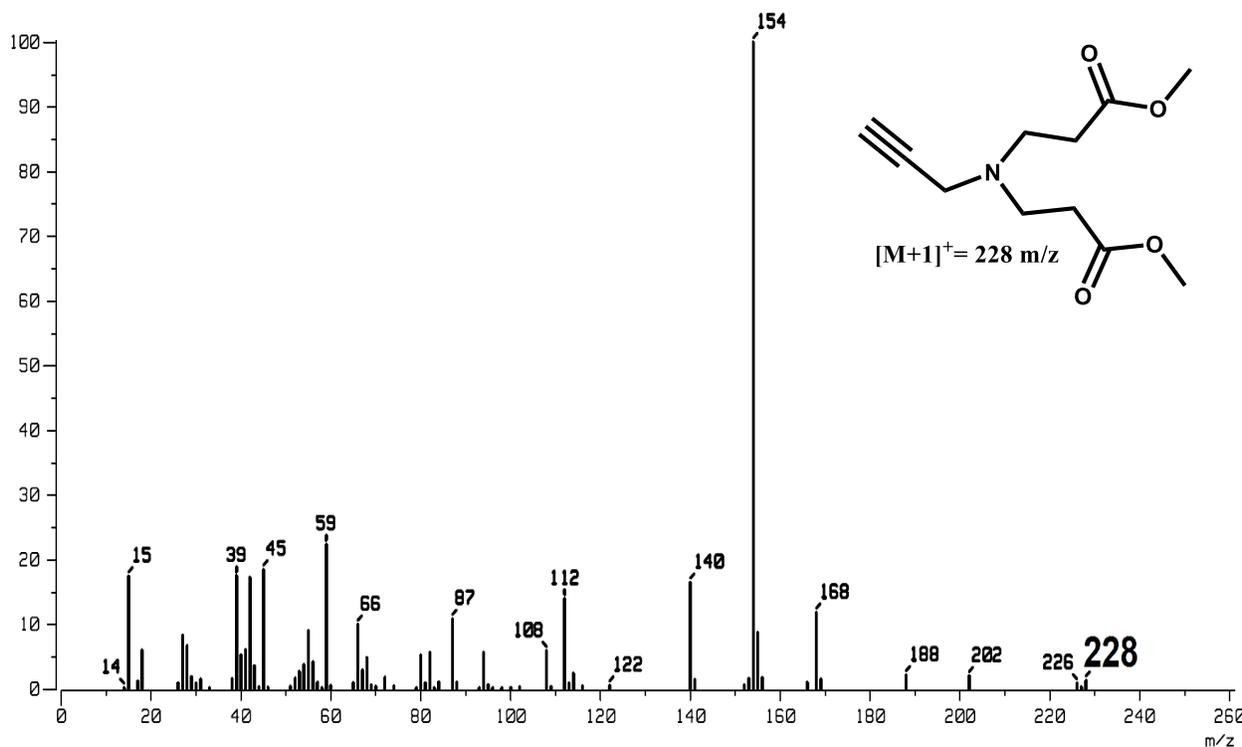
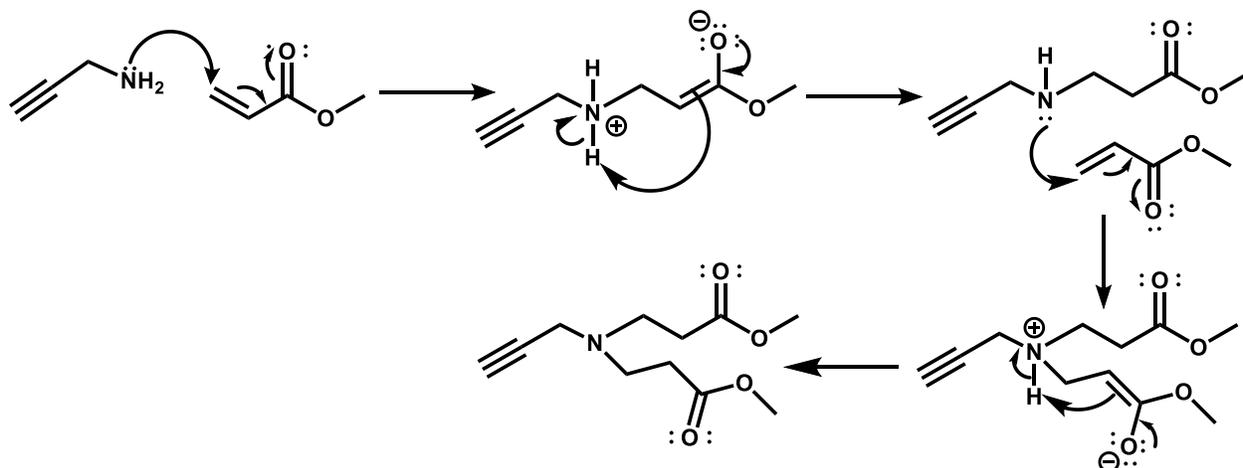


Figura 2. Espectro de masas de IE del compuesto **3**.

Una vez obtenido y purificado el dendrón de generación 0.5 se procedió a realizar la síntesis del dendrón de generación 1.0

1.1.1. Mecanismo de la reacción de adición de Michael

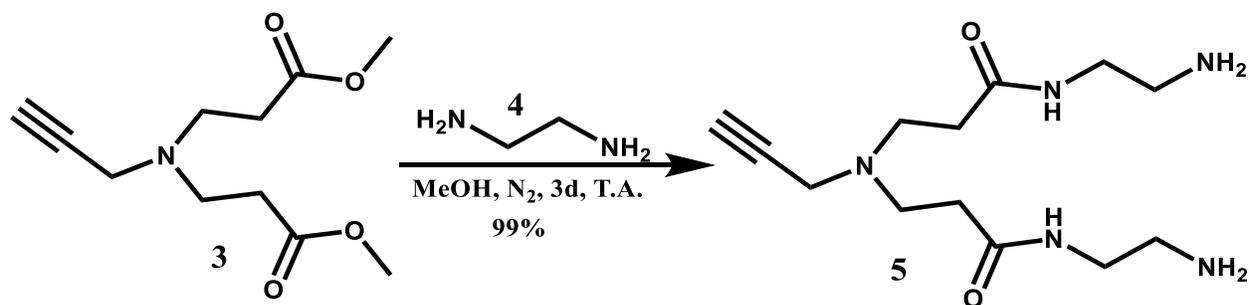
El mecanismo de la adición de Michael sigue la ruta de una adición 1,4. Comienza con el ataque nucleofílico de la amina al C_β del acrilato de metilo desplazando el par de electrones hasta el oxígeno del grupo carbonilo. Posteriormente, el par de electrones regresa haciendo que el C_α , mediante una reacción intramolecular, tome un hidrógeno de la amina protonada. La amina secundaria resultante es capaz de efectuar un segundo ataque nucleofílico dando como resultado una doble adición de Michael (Esquema 2).



Esquema 2. Mecanismo de la adición de Michael para la formación del compuesto **3**.

1.2. Síntesis del dendrón G1.0 de propargilamina **5** (Reacción de Aminólisis)

El compuesto **5** fue obtenido mediante una reacción de aminólisis entre el dendrón G0.5 de propargilamina **3** y etilendiamina. Ambos fueron disueltos en metanol bajo atmósfera de nitrógeno con agitación constante por 3 días (Esquema 3).



Esquema 3. Síntesis del dendrón G1.0 de propargilamina **5**.

Inicialmente, el compuesto **5** fue caracterizado por RMN de ^{13}C (figura 3), en donde se observa: una señal a 172.3 ppm correspondiente al carbonilo de la amida (6); una señal a 77.5 ppm correspondiente al carbono cuaternario del alquino terminal (2); una señal a 73.5 ppm correspondiente al CH del alquino terminal (1); una señal a 49.4 ppm correspondiente a los CH_2 unidos a nitrógeno (4); una señal a 42.0 ppm correspondiente a los CH_2 unidos a NH de amida (7); una señal a 41.4 ppm correspondiente al CH_2 unido a alquino (3); una señal a 41.3 ppm correspondiente a los CH_2 unidos al carbonilo de amida (5), y una señal a 33.8 correspondiente a los CH_2 unidos a las aminas terminales (8).

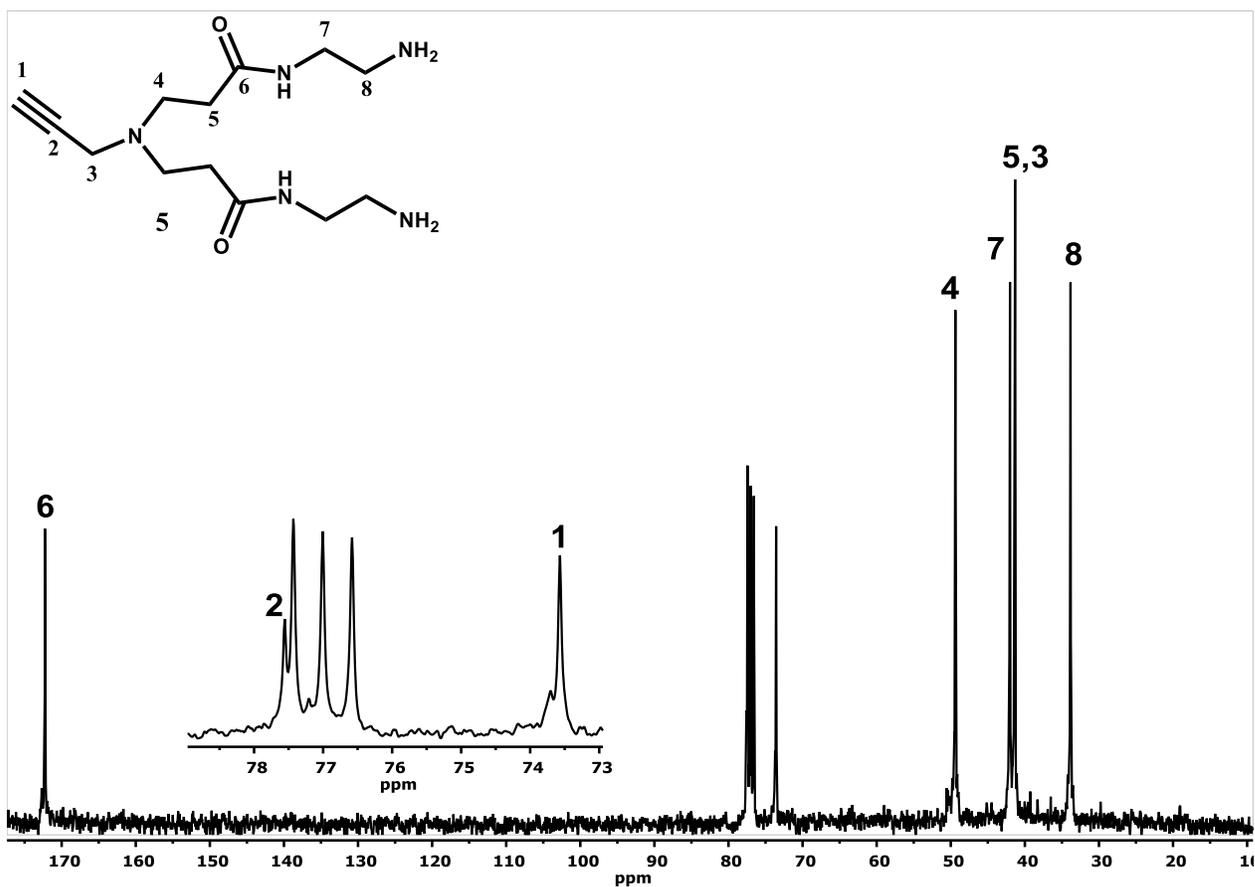


Figura 3. Espectro de RMN de ^{13}C del compuesto **5**.

Finalmente, el compuesto **5** fue caracterizado por espectrometría de masas de impacto electrónico, IE (figura 4). En el espectro se observa el ión molecular $[M+1]^+$ con una relación masa/carga de 284 correspondiente al peso molecular del compuesto más un hidrógeno **5**.

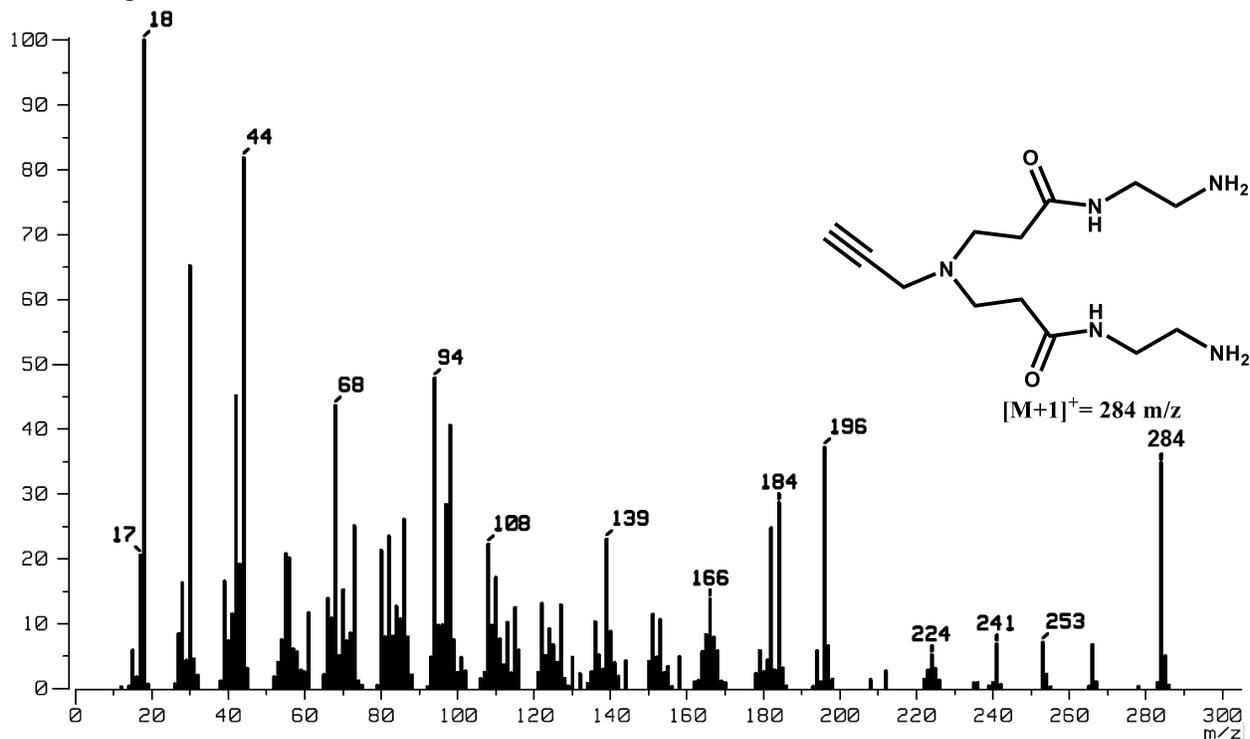
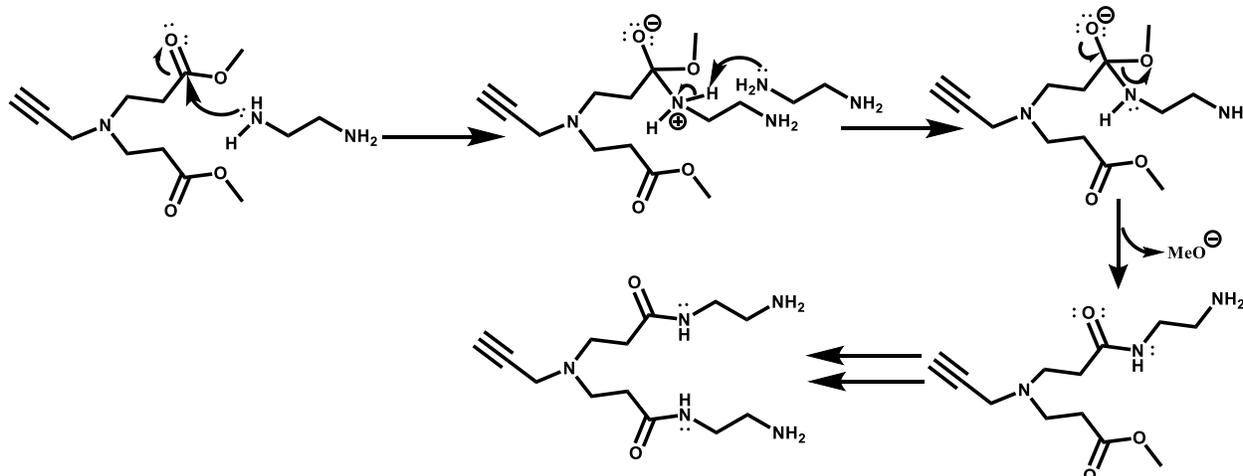


Figura 4. Espectro de masas de IE del compuesto **5**.

1.2.1. Mecanismo de la reacción de aminólisis

El mecanismo de reacción comienza con el ataque nucleofílico de una de las aminas a uno de los carbonilos de éster formando el intermediario tetraédrico; posteriormente, otra amina abstrae uno de los hidrógenos de la amina cuaternaria seguido por el regreso del par de electrones para restituir el carbonilo, y expulsando un ión metóxido, quedando formada la amida. Este proceso se repite para el otro éster de la molécula con otra molécula de etilendiamina (Esquema 4).

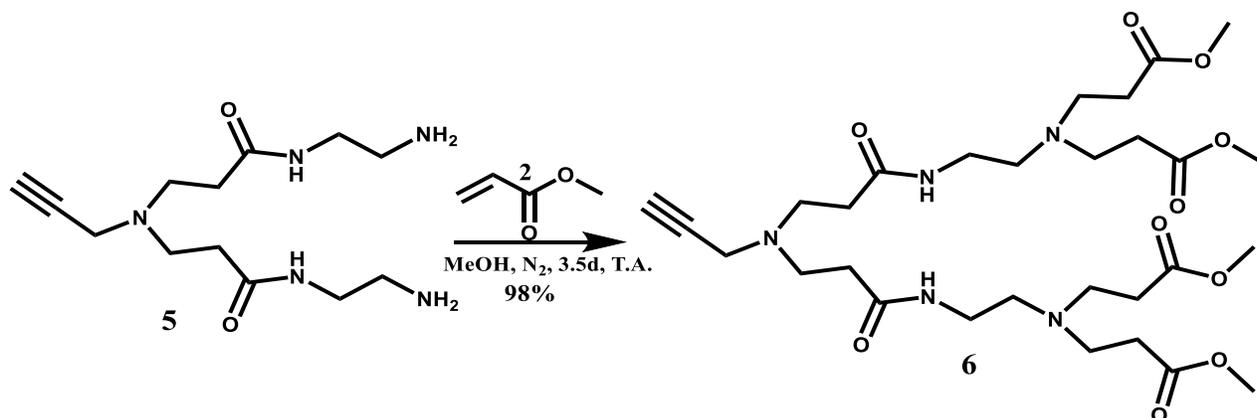


Esquema 4. Mecanismo de la aminólisis para la formación del compuesto **5**.

Una vez obtenido y purificado el dendrón de generación 1.0 se procedió a realizar la síntesis del dendrón de generación 1.5

1.3. Síntesis del dendrón G1.5 de propargilamina **6** (Reacción de adición de Michael).

El compuesto **6** fue obtenido mediante una reacción de adición de Michael, en la cual el dendrón G1.0 **5** y el acrilato de metilo **2** se disolvieron en metanol bajo atmósfera de nitrógeno con agitación constante por 3 días. (Esquema 5).



Esquema 5. Síntesis del dendrón G1.5 de propargilamina **6**

Inicialmente, el compuesto **6** fue caracterizado por RMN de ^1H (figura 5), en donde se observa: un triplete a 7.27 ppm con constante de acoplamiento $J= 3.59$ Hz correspondiente a los protones de amida (13); un singulete a 3.68 ppm correspondiente a los O-metilos de los ésteres terminales (12); un doblete a 3.46 ppm con constante de acoplamiento $J= 2.36$ Hz correspondiente al CH_2 unido al alquino terminal (3); un triplete a 3.28 ppm con constante de acoplamiento $J= 6.00$ Hz correspondiente a los CH_2 unidos a la amida (7); un triplete a 2.85 ppm con constante de acoplamiento $J= 6.78$ Hz correspondiente a los CH_2 unidos a nitrógeno (4); un triplete a 2.77 ppm con constante de acoplamiento $J= 6.72$ Hz correspondiente a los CH_2 unidos a nitrógeno (9); un triplete a 2.55 ppm con constante de acoplamiento $J= 6.00$ Hz correspondiente a los CH_2 unidos a nitrógeno (8); un triplete a 2.44 ppm con constante de acoplamiento $J= 6.72$ Hz correspondiente a los CH_2 unidos a carbonilo de éster (10); un triplete a 2.38 ppm con constante de acoplamiento $J= 6.78$ Hz correspondiente a los CH_2 unidos a carbonilo de amida (5); un triplete a 2.23 ppm con constante de acoplamiento $J= 2.36$ Hz correspondiente al CH del alquino terminal (1).

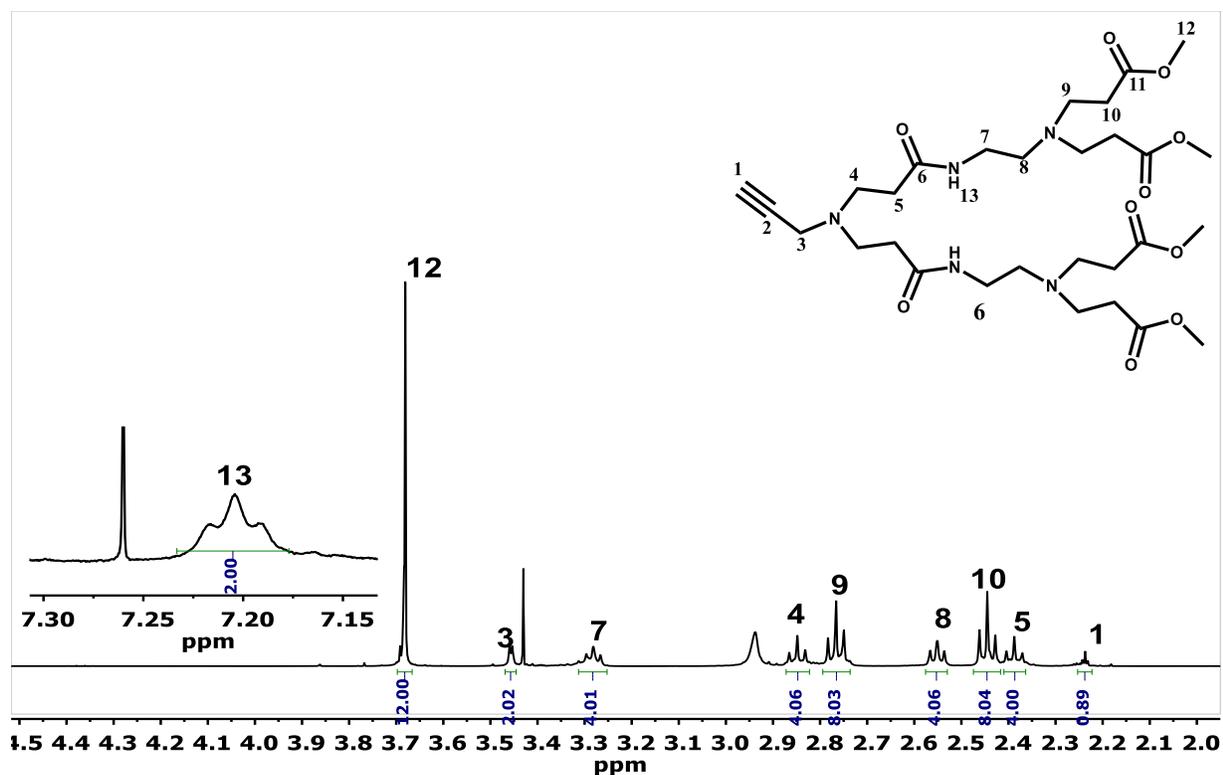


Figura 5. Espectro de RMN de ^1H del compuesto **6**.

Finalmente, el compuesto **6** fue caracterizado por espectrometría de masas de impacto electrónico, IE (figura 6). En el espectro se observa el ión molecular $[M]^+$ con una relación masa/carga de 627 correspondiente al peso molecular del compuesto.

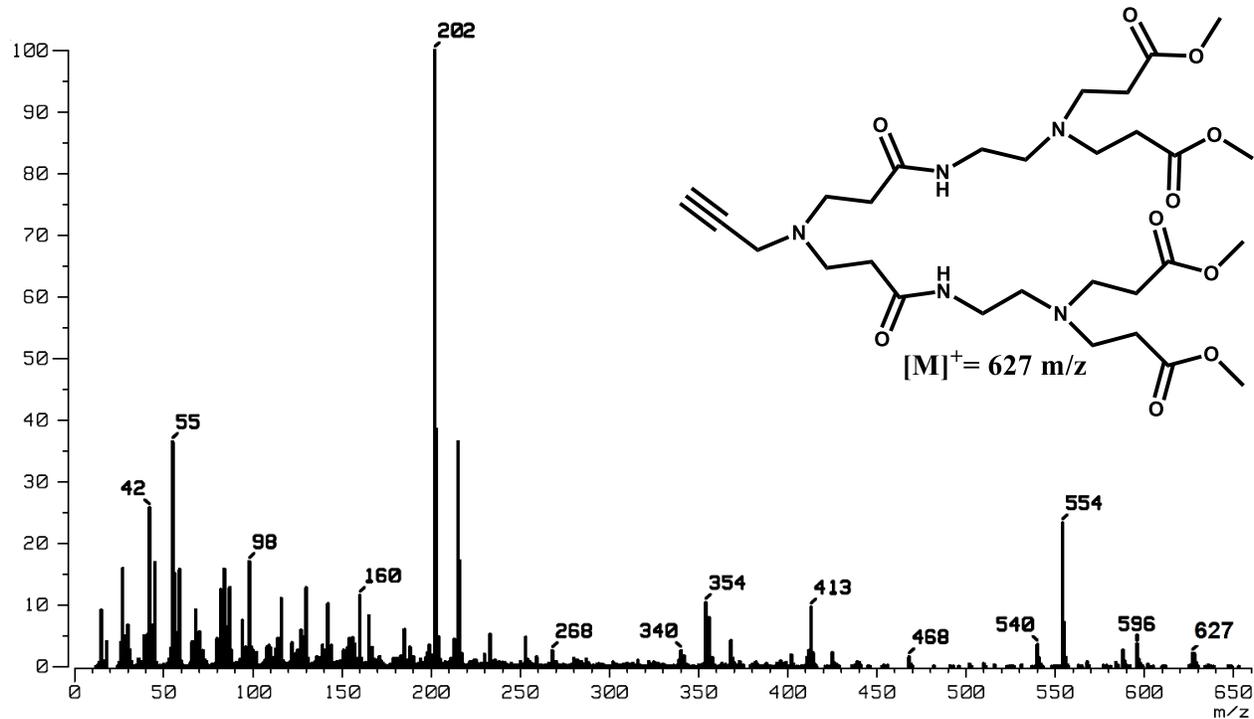
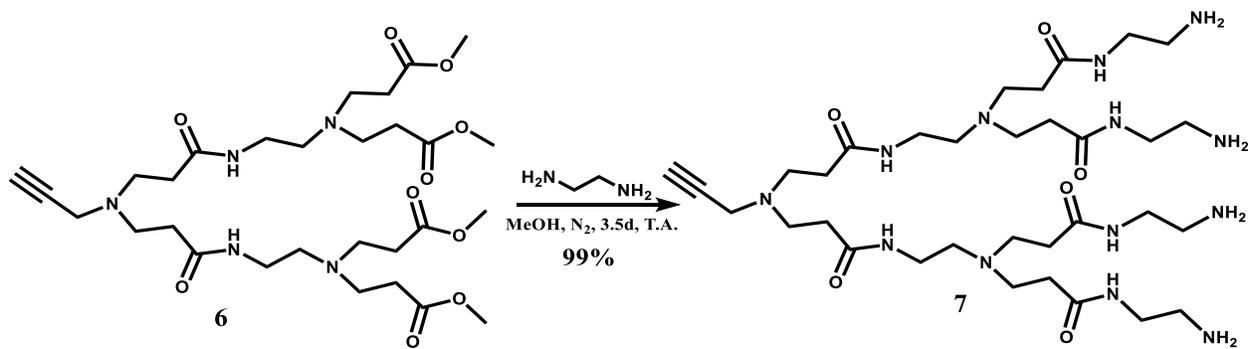


Figura 6. Espectro de masas de IE del compuesto **6**.

Una vez obtenido y purificado el dendrón de generación 1.5 se procedió a realizar la síntesis del dendrón de generación 2.0.

1.4. Síntesis del dendrón G2.0 de propargilamina **7** (Reacción de aminólisis).

El compuesto **7** fue obtenido mediante 4 reacciones de aminólisis entre el dendrón G1.5 de propargilamina **6** y etilendiamina. Ambos fueron disueltos en metanol bajo atmósfera de nitrógeno con agitación constante por 3.5 días (Esquema 6).



Esquema 6. Síntesis del dendrón G2.0 de propargilamina 7.

Inicialmente, el compuesto **7** fue caracterizado por espectroscopía infrarroja (FTIR) (Figura 7), en donde se observa: una banda ancha a 3284 cm⁻¹ correspondientes a las vibraciones de: alquino terminal, hidrógenos de amidas e hidrógenos de aminas; una banda a 3082 cm⁻¹ correspondiente a la vibración de un enlace saturado; dos bandas a 2940 y 2850 cm⁻¹ que corresponden a las vibraciones de los CH₂; una banda a 1644 correspondiente a la vibración de los carbonilos de amida y una banda a 1556 cm⁻¹ correspondiente al estiramientos simétricos de los enlaces N-C=O.

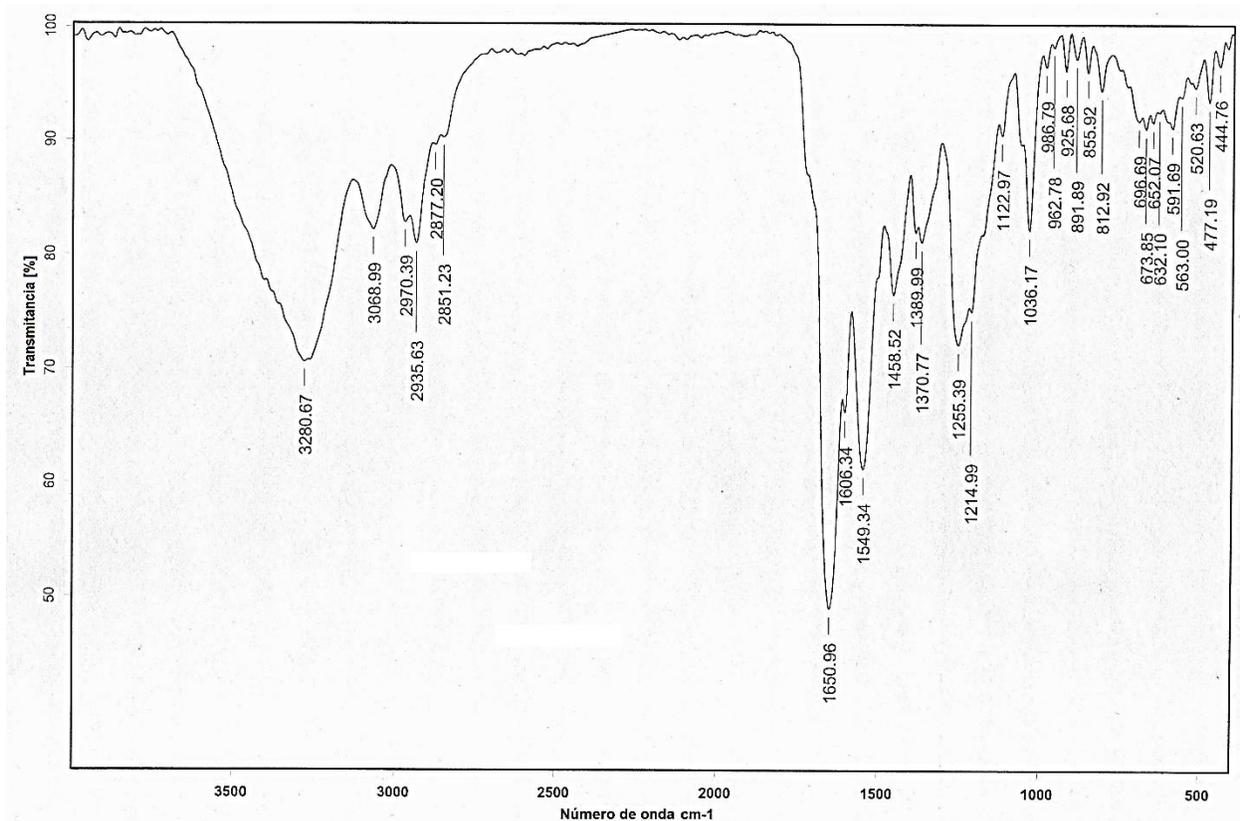


Figura 7. Espectro de FT-IR del compuesto 7.

De igual manera, el compuesto **7** fue caracterizado por espectrometría de masas FAB⁺ (Figura 8). En el espectro se observa el ión molecular [M]⁺ con una relación masa/carga de 740 correspondiente al peso molecular del compuesto.

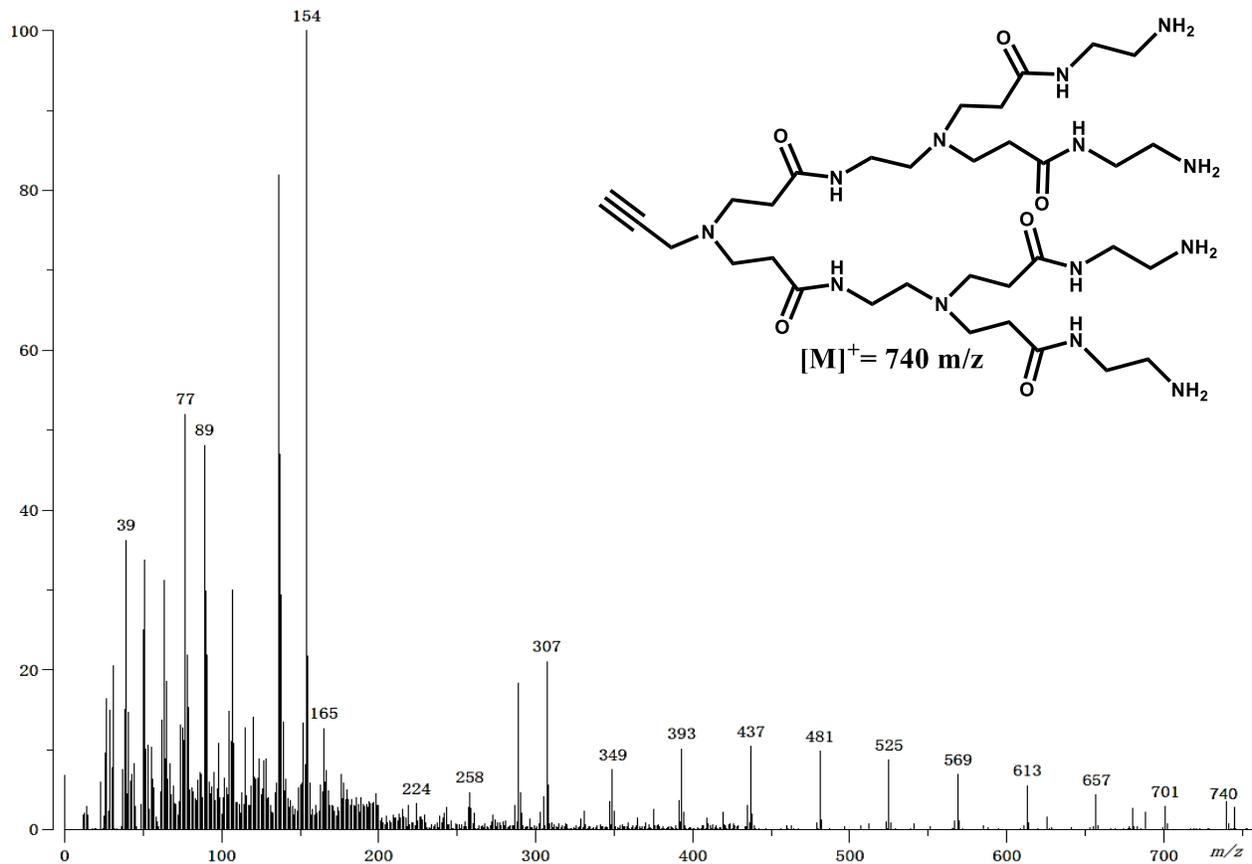


Figura 8. Espectro de masas FAB⁺ del compuesto **7**.

Para poder corroborar la asignación de los hidrógenos en cada una de las posiciones de la estructura el compuesto **7** fue caracterizado por resonancia magnética nuclear en dos dimensiones HSQC ¹H ¹³C en el espectro (Figura 9) se puede observar la correlación entre los hidrógenos de cada grupo con los carbonos correspondientes de la estructura.

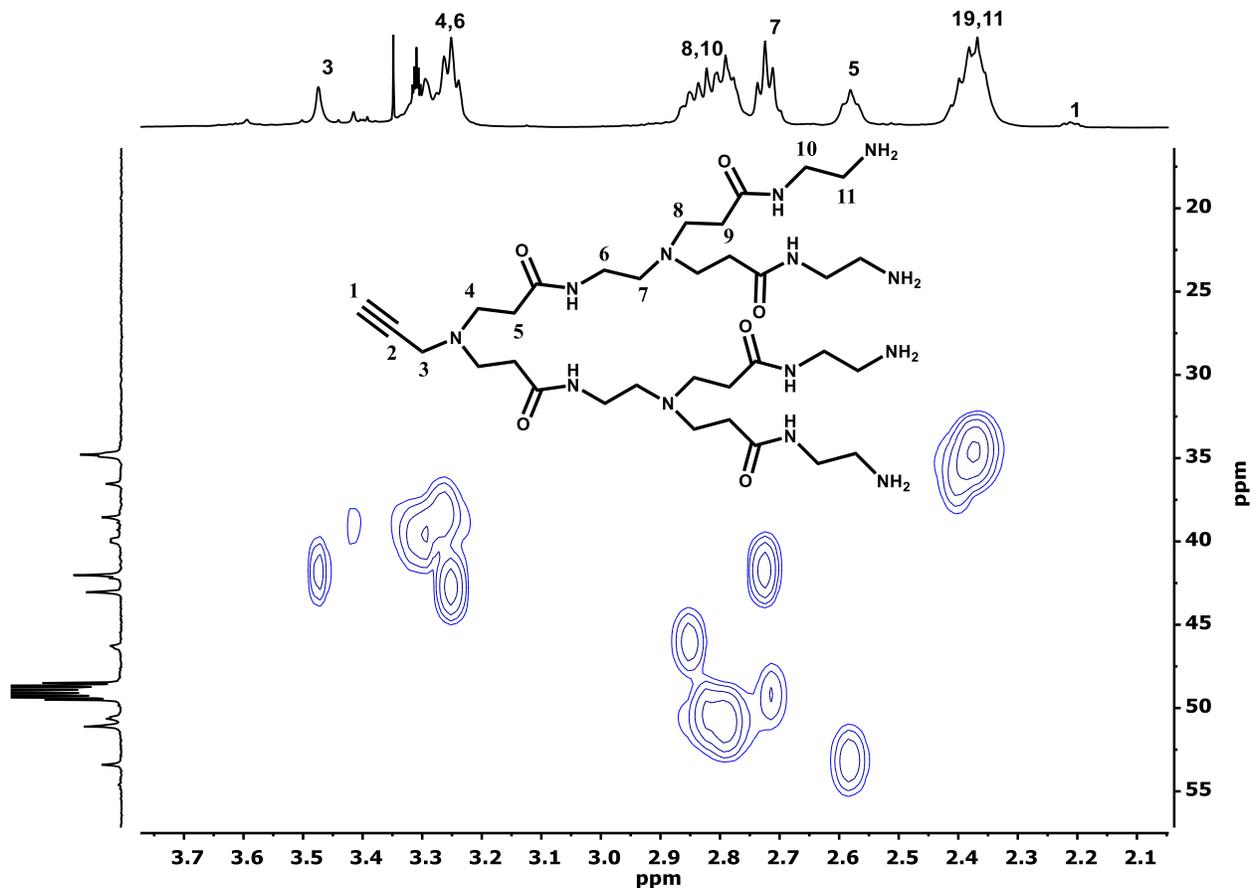


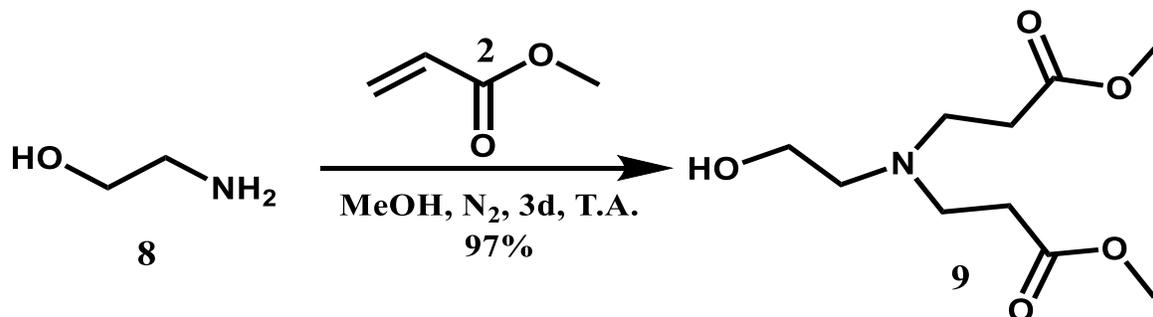
Figura 9. RMN 2D HSQC ^1H ^{13}C del compuesto 7.

De los datos de resonancia magnética nuclear de ^1H , ^{13}C RMN en 1D y 2D, así como por espectrometría de masas se puede afirmar que se obtuvieron los dendrones de primera y segunda generación tipo PAMAM partiendo de la propargilamina con rendimientos mayores al 90%. Además, se afirma que ninguno de los dendrones tiene algún defecto en su estructura, esto debido al método de crecimiento usado en el que se necesitan grandes excesos de reactivos para asegurar la sustitución completa de los sitios activos.

Una vez obtenidos los dendrímeros de primera y segunda generación se procedió a realizar la síntesis de los dendrones tipo PAMAM a partir de la etanolamina.

1.5. Síntesis del dendrón G0.5 de etanolamina **9** (Reacción de Adición de Michael)

El compuesto **9** fue obtenido mediante una reacción de adición de Michael, en la cual la etanolamina **8** y el acrilato de metilo **2** se disolvieron en metanol bajo atmósfera de nitrógeno con agitación constante por 3 días. (Esquema 7).



Esquema 7. Síntesis del dendrón G0.5 de etanolamina **9**.

Inicialmente, el compuesto **9** fue caracterizado por RMN de ¹³C (figura 10), en donde se observa: una señal a 176.0 ppm correspondiente al carbono del carbonilo tipo éster (5); una señal a 59.1 ppm correspondiente al CH₂ unido al OH (1); una señal a 55.9 ppm correspondiente al CH₂ unido a nitrógeno (2); una señal a 51.83 correspondiente a los O-metilos de los ésteres terminales (6); una señal a 49.2 ppm correspondiente a los CH₂ unidos a nitrógeno (3); una señal a 32.6 ppm correspondiente a los CH₂ unidos a carbonilo (4).

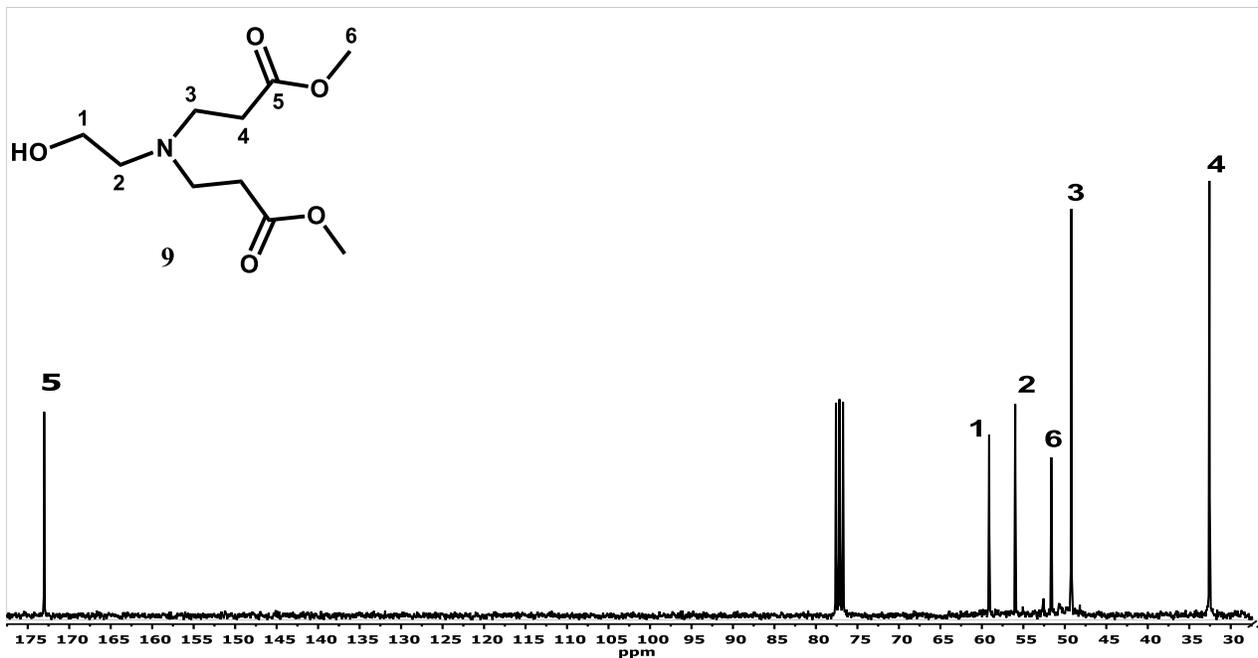


Figura 10. Espectro de RMN de ¹³C del compuesto 9.

Finalmente, el compuesto 9 fue caracterizado por espectrometría de masas de impacto electrónico (IE) (Figura 11). En el espectro se observa el ión molecular [M]⁺ con una relación masa/carga de 233 correspondiente al peso molecular del compuesto 9.

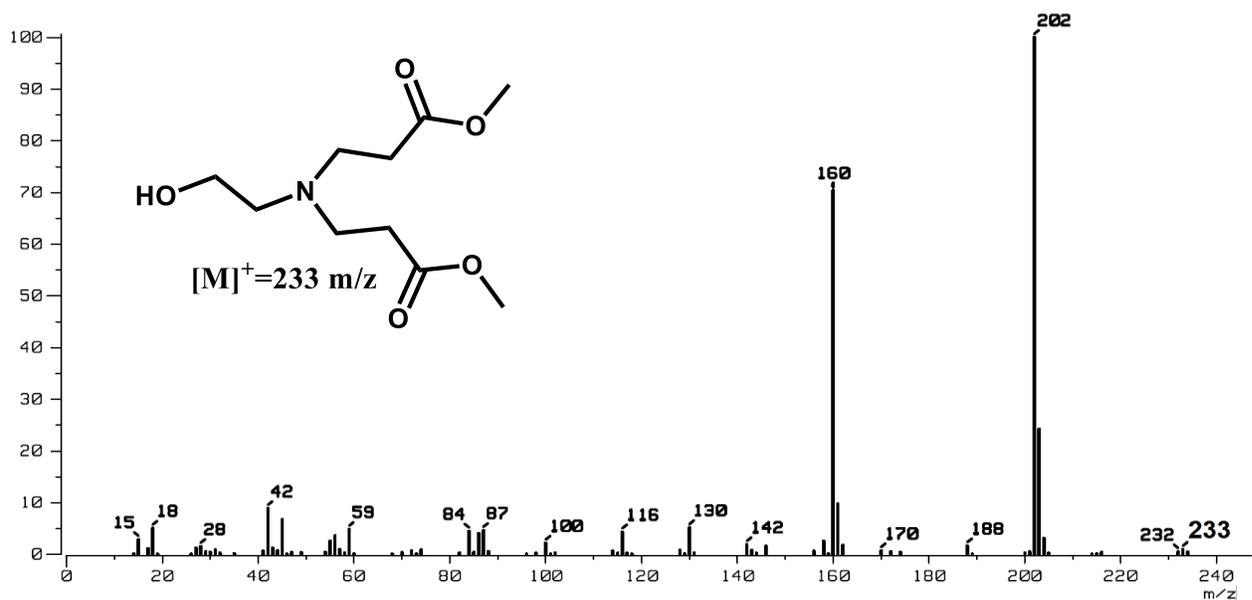
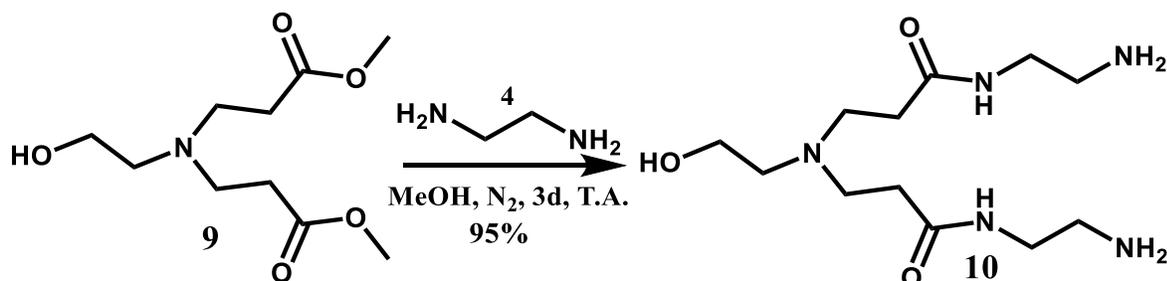


Figura 11. Espectro de masas de IE del compuesto 9.

1.6. Síntesis del dendrón G1.0 de etanolamina 10 (Reacción de Aminólisis)

El compuesto **10** fue obtenido mediante una reacción de aminólisis entre el dendrón G0.5 de propargilamina **9** y etilendiamina **4**. Ambos fueron disueltos en metanol bajo atmósfera de nitrógeno con agitación constante por 3 días (Esquema 8).



Esquema 8. Síntesis del dendrón G1.0 de etanolamina **10**.

Inicialmente, el compuesto **10** fue caracterizado por RMN de ¹H (Figura 12), en donde se observa: un triplete a 7.79 ppm con constante de acoplamiento $J = 5.4$ Hz correspondiente a los protones de amida (7); un triplete a 3.61 ppm con constante de acoplamiento $J = 4.8$ Hz correspondiente al CH₂ unido al OH (2); un cuadruplete a 3.27 ppm con constante de acoplamiento $J = 5.6$ Hz correspondiente a los CH₂ unidos a amida (8); un triplete a 2.81 ppm con constante de acoplamiento $J = 6.1$ Hz correspondiente a los CH₂ unidos a carbonilo; un triplete a 2.75 ppm con constante de acoplamiento $J = 6.15$ Hz correspondiente a los CH₂ unidos a nitrógeno (4); un singulete a 2.62 ppm correspondiente a las aminas terminales (10); un triplete a 2.56 ppm con constante de acoplamiento $J = 4.8$ Hz correspondiente a los CH₂ unidos a nitrógeno (3) y un triplete a 2.38 ppm con constante de acoplamiento $J = 5.6$ Hz correspondiente a los CH₂ unidos a amida (9).

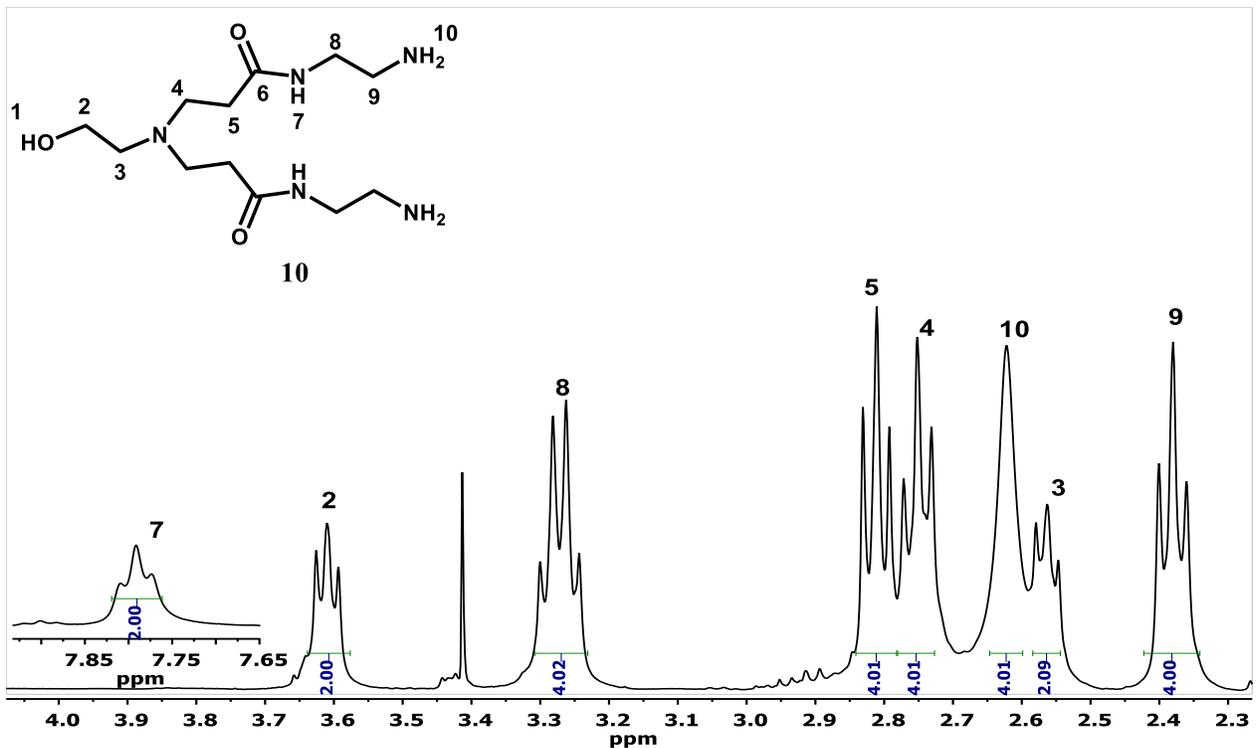


Figura 12. Espectro de RMN de ^1H del compuesto **10**.

Finalmente, el compuesto **10** fue caracterizado por espectrometría de masas de impacto electrónico (IE) (Figura 13). En el espectro se observa el ión molecular $[\text{M}+1]^+$ con una relación masa/carga de 290 correspondiente al peso molecular del compuesto más un hidrógeno **10**.

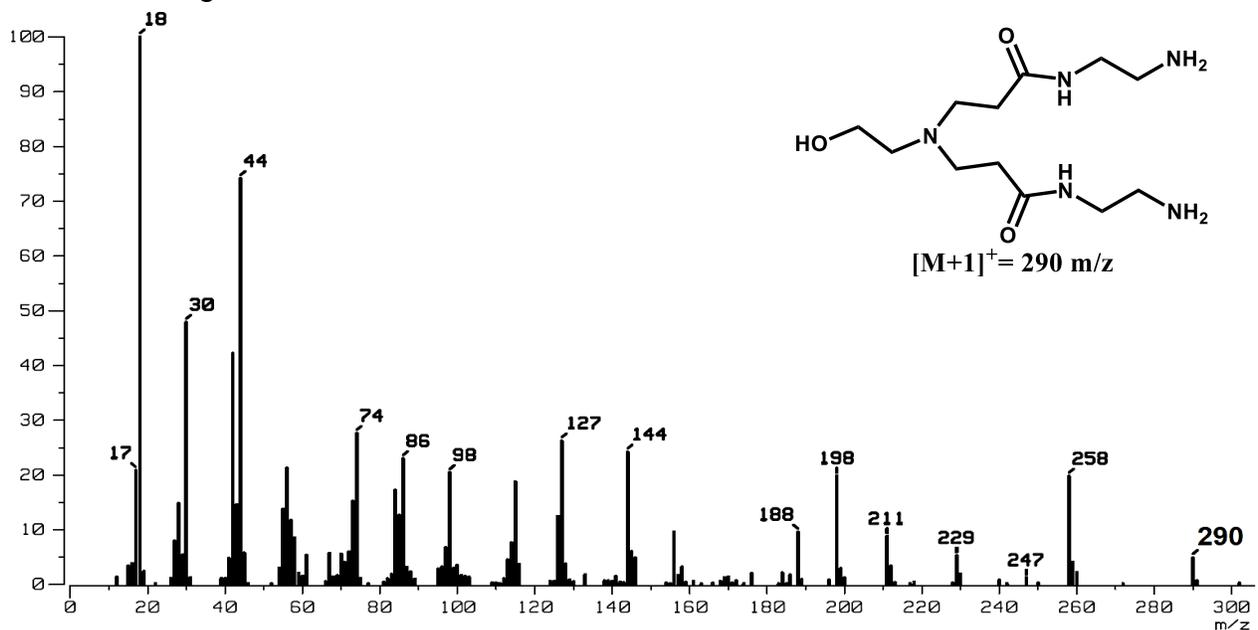
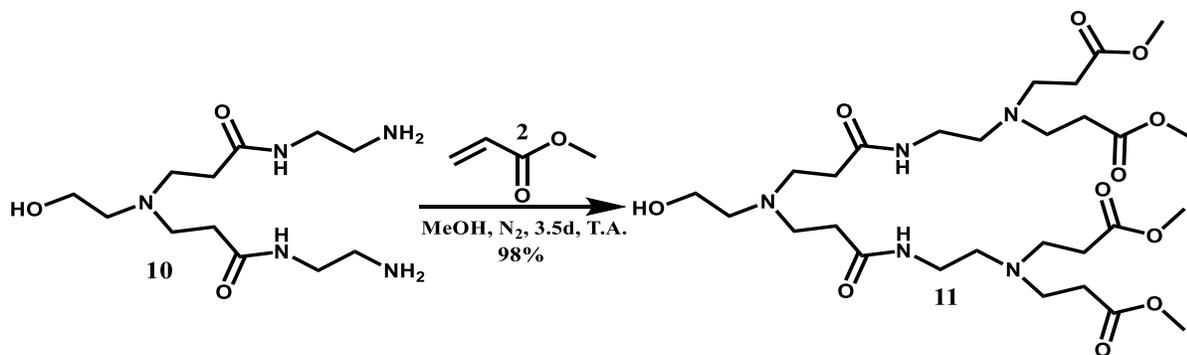


Figura 13. Espectro de masas de IE del compuesto **10**

Una vez obtenido y purificado el dendrón de generación 1.0 se procedió a realizar la síntesis del dendrón de generación 1.5

1.7. Síntesis del dendrón G1.5 de etilendiamina **11** (Reacción de adición de Michael).

El compuesto **11** fue obtenido mediante una reacción de adición de Michael, en la cual el dendrón G1.0 **10** y el acrilato de metilo **2** se disolvieron en metanol bajo atmósfera de nitrógeno con agitación constante por 3.5 días. (Esquema 9).



Esquema 9. Síntesis del dendrón G1.5 de etanolamina **11**.

Inicialmente, el compuesto **9** fue caracterizado por RMN de ^{13}C (Figura 14), en donde se observa: una señal a 173.9 ppm correspondiente al carbono del carbonilo de éster (5); una señal a 173.3 ppm correspondiente al carbono del carbonilo de amida (10); una señal a 59.3 ppm correspondiente al CH_2 unido al OH (1); una señal a 55.9 ppm correspondiente al CH_2 unido a nitrógeno (2); una señal a 52.9 ppm correspondiente a los CH_2 unidos a la amida (6); una señal a 51.7 ppm correspondiente a los CH_3 de los ésteres terminales (11); una señal a 49.7 ppm correspondiente a los CH_2 unidos a nitrógeno (3); una señal a 49.3 ppm correspondiente a los CH_2 unidos a nitrógeno (7); una señal a 37.2 ppm correspondiente a los CH_2 unidos a nitrógeno (8); una señal a 33.9 ppm correspondiente a los CH_2 unidos a carbonilo (9); una señal a 32.6 ppm correspondiente a los CH_2 unidos a carbonilo (4).

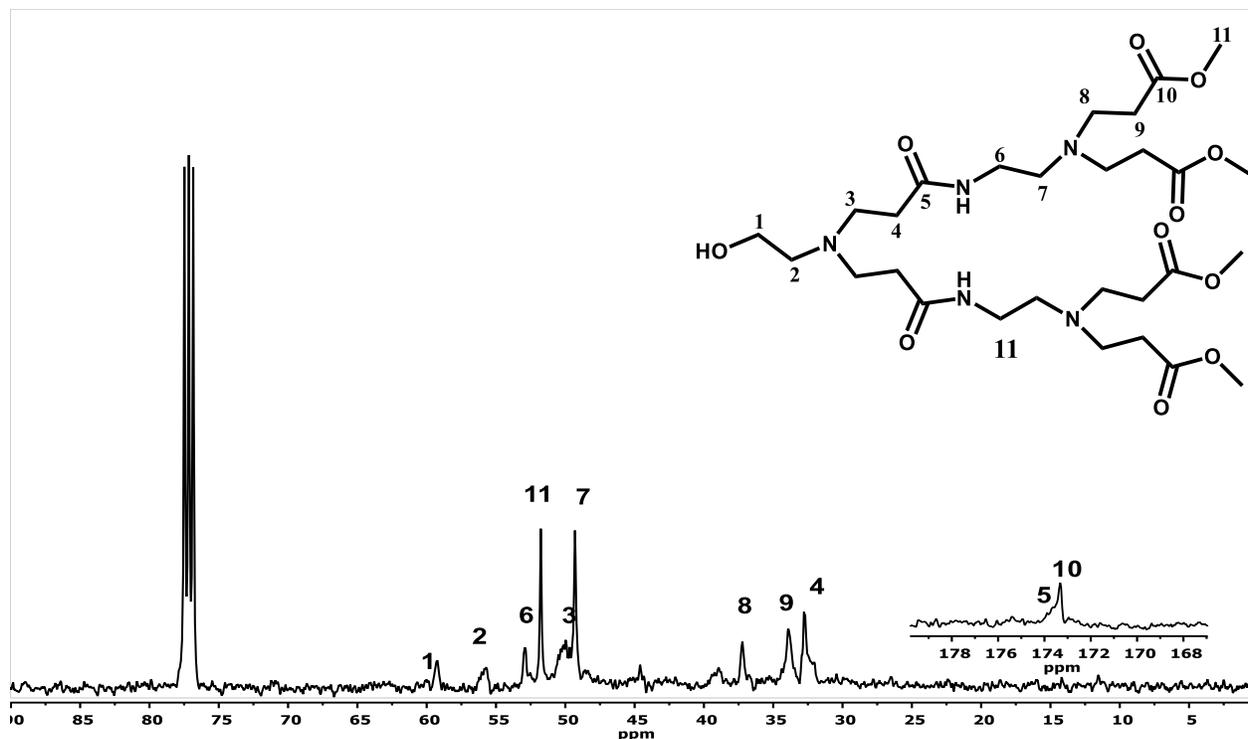


Figura 14. Espectro de RMN de ^{13}C del compuesto 11.

Finalmente, el compuesto 11 fue caracterizado por espectrometría de masas de impacto electrónico (IE) (Figura 15). En el espectro se observa el ión molecular $[\text{M}+1]^+$ con una relación masa/carga de 634 correspondiente al peso molecular del compuesto más un hidrógeno 11.

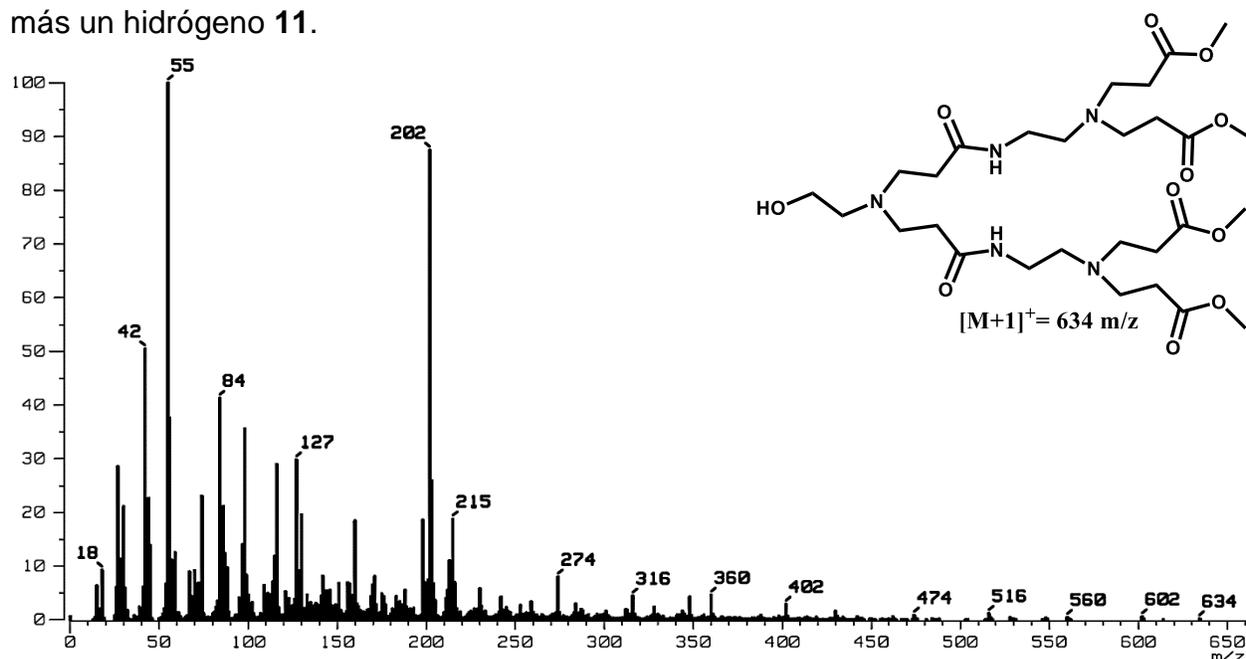
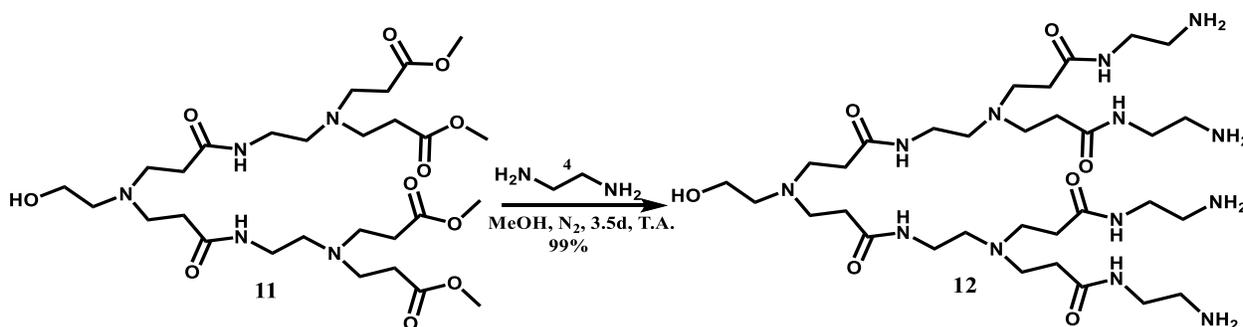


Figura 15. Espectro de masas de IE del compuesto 11.

Una vez obtenido y purificado el dendrón de generación 1.5 se procedió a realizar la síntesis del dendrón de generación 2.0.

1.8. Síntesis del dendrón G2.0 de etanolamina **12** (Reacción de aminólisis).

El compuesto **12** fue obtenido mediante 4 reacciones de aminólisis entre el dendrón G1.5 de etanolamina **11** y etilendiamina. Ambos fueron disueltos en metanol bajo atmósfera de nitrógeno con agitación constante por 3.5 días (Esquema 10).



Esquema 10. Síntesis del dendrón G2.0 de etanolamina **12**.

El compuesto **12** fue caracterizado por RMN de ^1H (Figura 16) en donde se observa: una señal ancha a 3.64 ppm correspondiente a los CH_2 unidos a OH (1), una señal ancha a 3.29 ppm correspondiente a los CH_2 unidos a nitrógeno (7), una señal ancha a 3.25 ppm correspondiente a los CH_2 unidos a aminas primarias (12), una señal ancha a 2.85 ppm correspondiente a los CH_2 unidos a nitrógeno (3), una señal ancha a 2.79 ppm correspondiente a los CH_2 unidos a nitrógeno (8), una señal ancha a 2.72 ppm correspondiente a los CH_2 unidos a NH de amida (11), una señal ancha a 2.62 ppm correspondiente al CH_2 unido a nitrógeno (2), una señal ancha a 2.58 ppm correspondiente a los CH_2 unidos a carbonilo (4), una señal ancha a 2.37 ppm correspondiente a los CH_2 unidos a carbonilo (9) y a NH de amida (6).

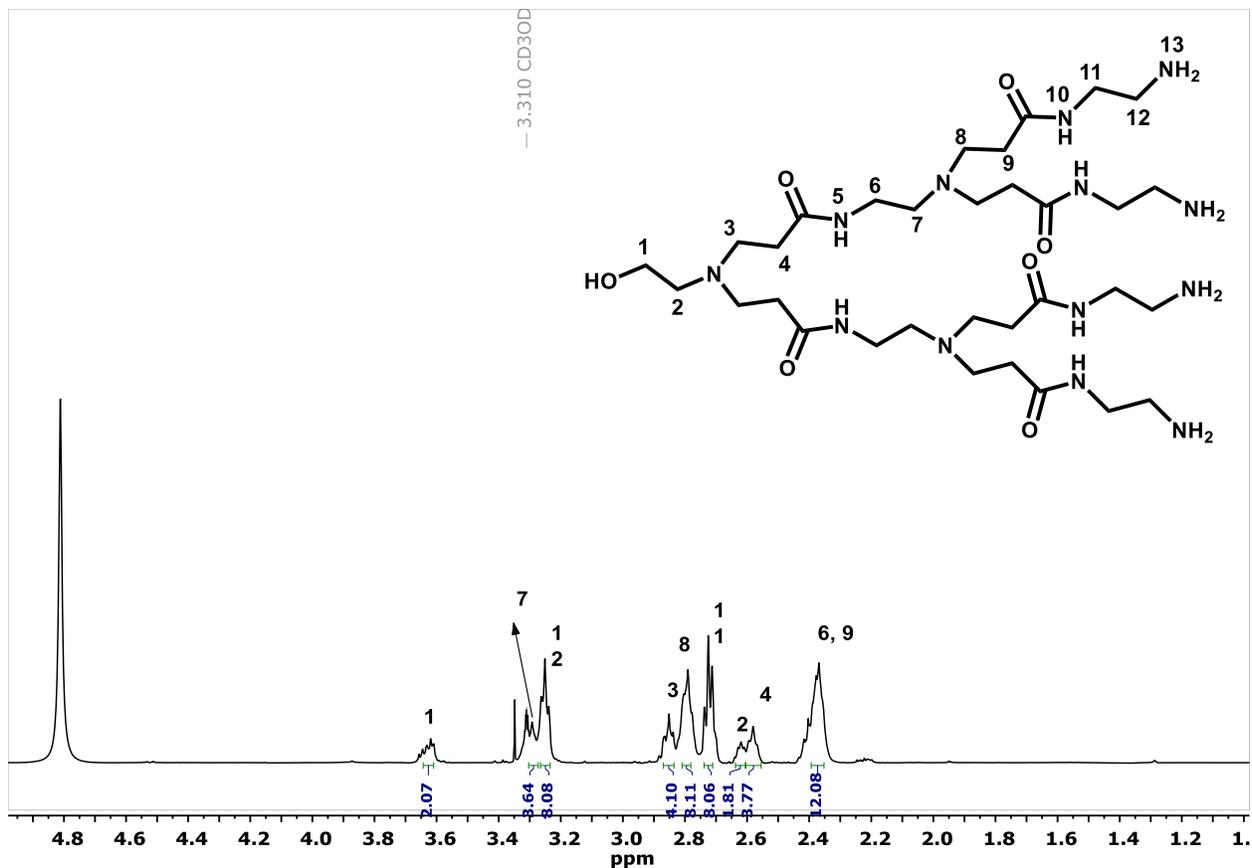


Figura 16. Espectro de RMN de ^1H del compuesto 12.

Posteriormente se caracterizó por espectroscopía infrarroja (FTIR) (Figura 17), en donde se observa: una banda ancha a 3383 y 3300 cm^{-1} correspondientes a las vibraciones de: hidrógenos de amidas, hidrógenos de aminas y al OH terminal; dos bandas a 2944 y 2870 cm^{-1} que corresponden a las vibraciones de los CH_2 ; una banda a 1639 correspondiente a la vibración de los carbonilos de amida y una banda a 1562 cm^{-1} correspondiente a los estiramientos simétricos de los enlaces N-C=O .

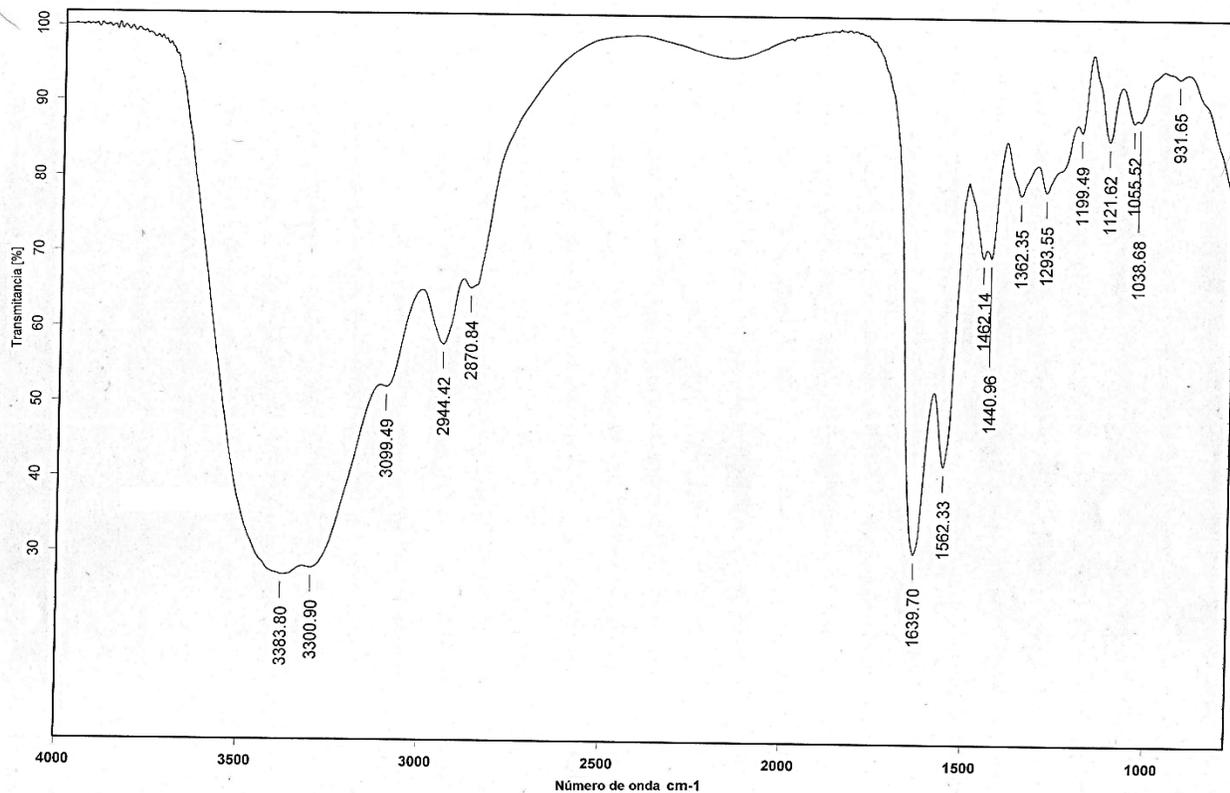


Figura 17. Espectro de FT-IR del compuesto **12**.

Finalmente, el compuesto **12** fue caracterizado por espectrometría de masas FAB⁺ (Figura 18). En el espectro se observa el ión molecular [M]⁺ con una relación masa/carga de 746 correspondiente al peso molecular del compuesto **12**.

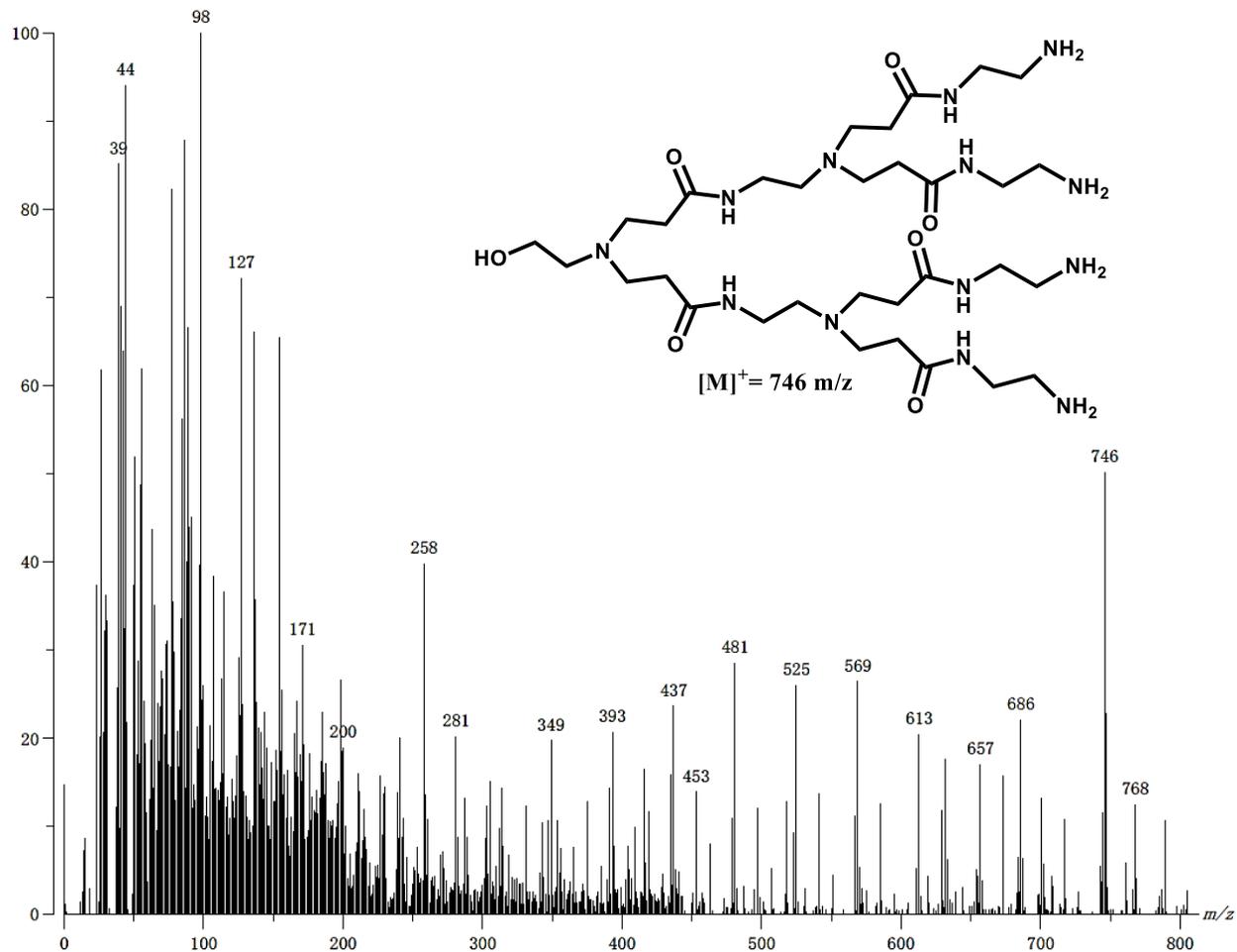


Figura 18. Espectro de masas FAB⁺ del compuesto **12**.

De los datos de resonancia magnética nuclear de ^1H , ^{13}C RMN, así como por espectrometría de masas se puede afirmar que se obtuvieron los dendrones de primera y segunda generación tipo PAMAM partiendo de la etanolamina con rendimientos mayores al 90%. De igual manera que con los dendrones provenientes de la propargilamina, en el caso de los de etanolamina es afirmable que ninguno de los dendrones tiene algún defecto en su estructura, esto debido al método de crecimiento usado en el que se necesitan grandes excesos de reactivos para asegurar la sustitución completa de los sitios activos.

Una vez obtenidos y caracterizados por las técnicas espectroscópicas los dendrones de primera y segunda generación a partir de la propargilamina y de la etanolamina se procedió a realizar el acoplamiento del fármaco (Naproxeno).

2. Síntesis de los conjugados dendriméricos con Naproxeno

Los Antiinflamatorios no esteroideos (AINE's) además de su uso como antiinflamatorios, antipiréticos y analgésicos, en años recientes se ha desarrollado su uso como agentes quimiopreventivos y en quimioterapia contra el cáncer. La idea de prevenir o tratar el cáncer se inicia en los años 70's con Michael Sporn; dichos compuestos deben prevenir la ocurrencia de lesiones preneoplásicas o, retrasar o revertir la progresión metastática. Con el objetivo de tratar algún tipo de cáncer en los últimos años se han empleado conjugados dendriméricos con fármacos antiinflamatorios nosotros sintetizaremos conjugados dendriméricos con naproxeno en su estructura para lo cual iniciamos con la extracción del naproxeno.

2.1. Extracción del Naproxeno 13

Se hizo la extracción del Naproxeno de tabletas comerciales (Farmacias del ahorro) de 500 mg. Las tabletas fueron trituradas y se hizo una extracción líquido-sólido usando metanol. Se filtró y evaporó el metanol obteniéndose el Naproxeno libre.

Inicialmente, el naproxeno **13** extraído fue caracterizado por RMN de ^1H (Figura 19), en donde se observa: a 7.69 ppm un multiplete correspondiente a protones aromáticos (13, 7 y 5); a 7.40 ppm un doble de dobles con constantes de acoplamiento $J= 8.55$ Hz y $J= 1.84$ Hz correspondiente a un protón aromático (6); a 7.18 ppm un doblete con constante de acoplamiento $J= 2.54$ Hz correspondiente a un protón aromático (9); a 7.10 ppm un doble de dobles con constantes de acoplamiento $J= 8.97$ Hz y $J= 2.54$ Hz correspondiente a un protón aromático (12); un singulete a 3.87 ppm correspondiente al O-CH₃ (11); a 3.83 ppm un cuadruplete con constante de acoplamiento $J= 7.14$ Hz correspondiente al CH quiral (3); a 1.52 ppm un doblete con constante de acoplamiento $J= 7.15$ Hz correspondiente al CH₃ (2).

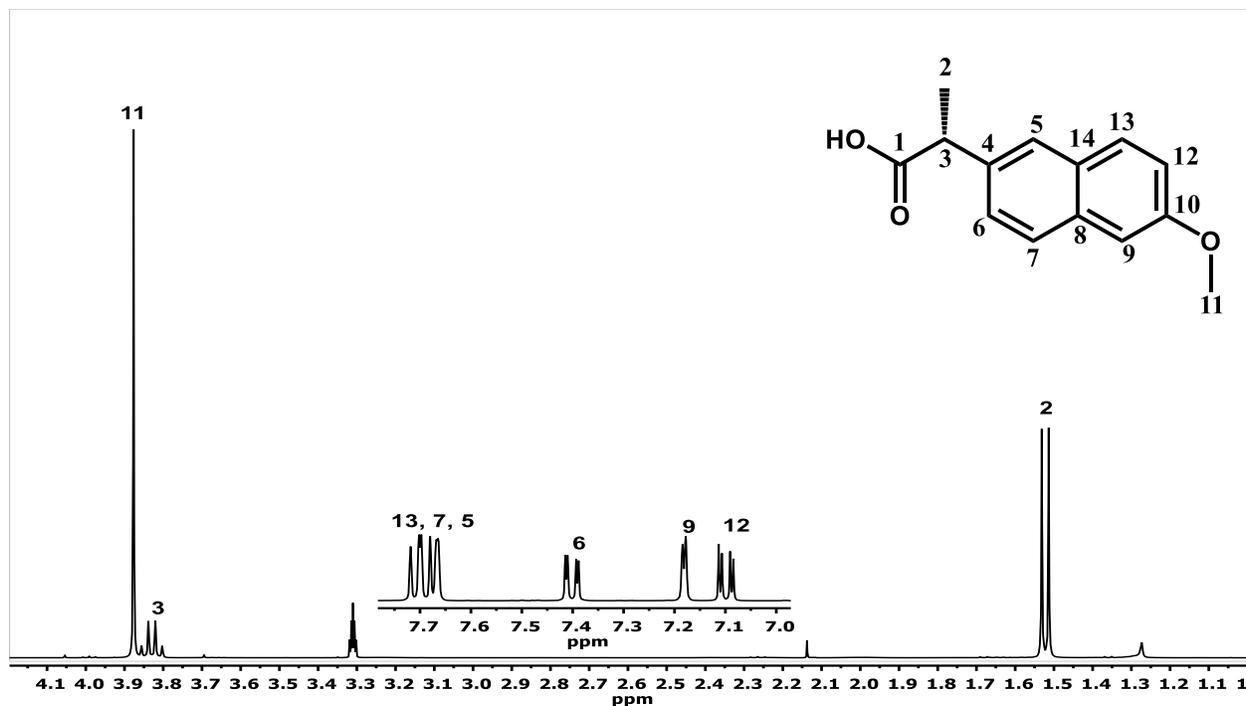


Figura 19. Espectro de RMN ^1H del compuesto **13**.

De igual manera, el naproxeno **13** fue caracterizado por RMN de ^{13}C (Figura 20), en donde se observa: una señal a 178.5 ppm del carbono del carbonilo de ácido (1); en la región de los aromáticos una señal a 159.1 ppm correspondiente al carbono base oxígeno aromático (10); tres señales correspondientes a los carbonos de unión a 137.5 ppm Ar_{ipso} (4), 135.1 ppm Ar_{ipso} (8) y a 130.3 ppm Ar_{ipso} (14). Para los carbonos con hidrógenos se observaron 130.16 ppm una señal para el carbono (13), tres señales a 128.12, 127.19 y 126.8 ppm para los carbonos en las posiciones (6,7,5) respectivamente. Señales de igual intensidad se observaron a 119.8 y 106.6 ppm para los carbonos (12 y 9) respectivamente. Además, una señal a 55.6 ppm correspondiente al O-CH_3 (11); una señal a 46.5 ppm asignada al CH del estereocentro (3) y una señal a 19.3 ppm correspondiente al CH_3 (2).

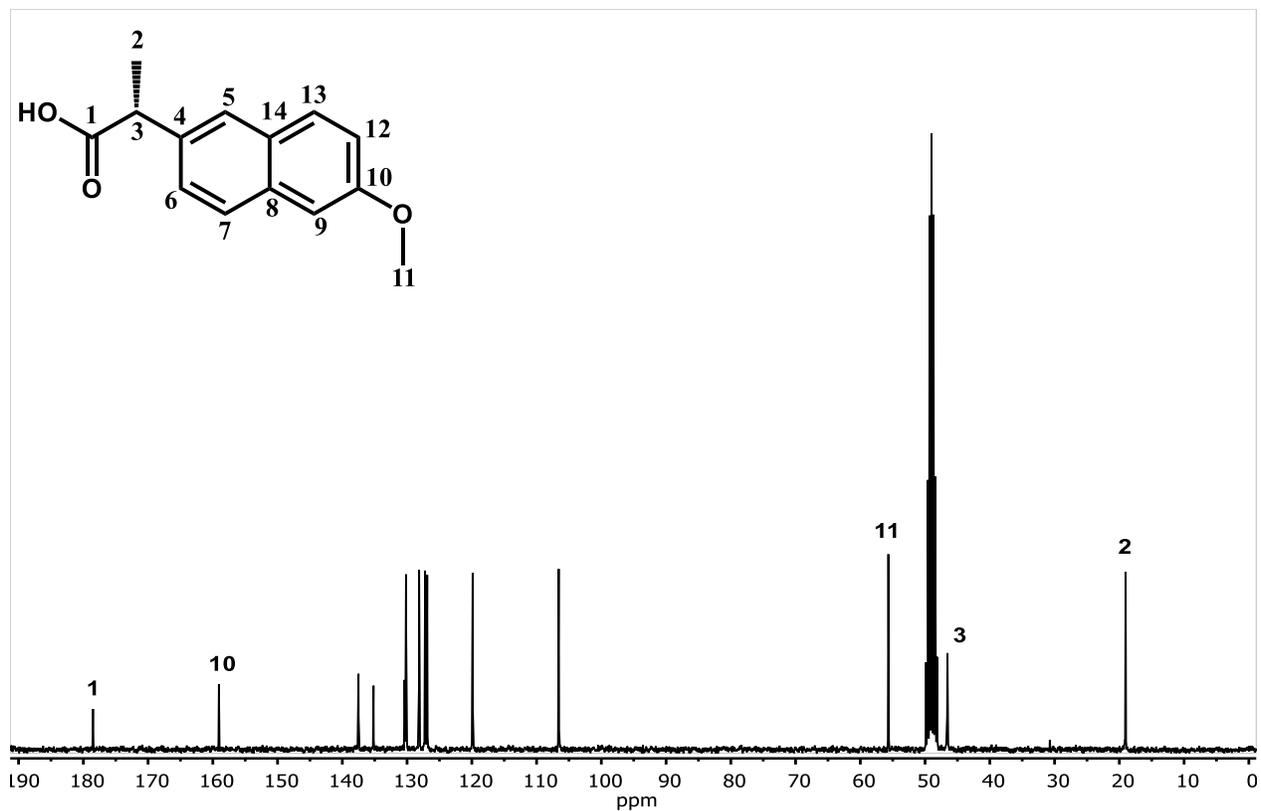
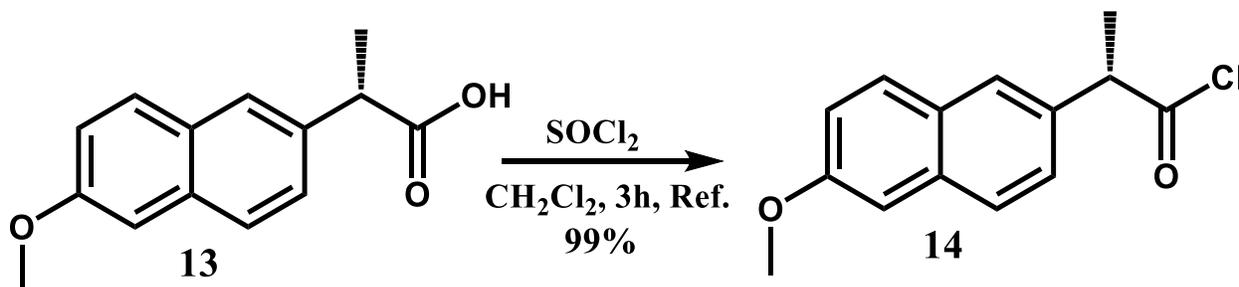


Figura 20. Espectro de RMN ^{13}C del compuesto 13.

Se sabe que comercialmente el naproxeno se vende como el estereoisómero *S* de manera pura. Con los espectros de RMN se afirma que sólo se tiene dicho isómero ya que los espectros no muestran multiplicidad anómala o excesiva en las señales. De tener mezcla de estereoisómeros, deberían observarse todas las señales dobleteadas.

2.2. Formación de cloruro de ácido del naproxeno 14 (Reacción de formación del cloruro de ácido)

El cloruro del naproxeno **14** se obtuvo por medio de una reacción de cloración entre el naproxeno ácido y cloruro de tionilo en diclorometano en agitación constante por 3 horas (Esquema 11).



Esquema 11. Reacción de formación del cloruro de ácido del naproxeno **14**.

Inicialmente, el compuesto **14** fue caracterizado por RMN de ¹H y ¹³C en donde se observan desplazamientos de señales características que indican la transformación de ácido en cloruro de ácido.

- En RMN ¹H se observa el desplazamiento del cuadruplete del CH quiral de 3.87 ppm a 4.24 ppm; también, se observa un ligero desplazamiento del doblete del CH₃ de 1.59 ppm a 1.67 ppm. Esto debido al diferente ambiente magnético generado por la presencia del cloro (Figura 21).
- En RMN ¹³C se observa el desplazamiento de la señal del carbonilo de 179.8 ppm a 175.7 ppm; se observa el desplazamiento de la señal del CH quiral de 45.1 ppm a 57.4 ppm y se observa el desplazamiento de la señal del CH₃ de 18.1 ppm a 18.7 ppm (Figura 22).

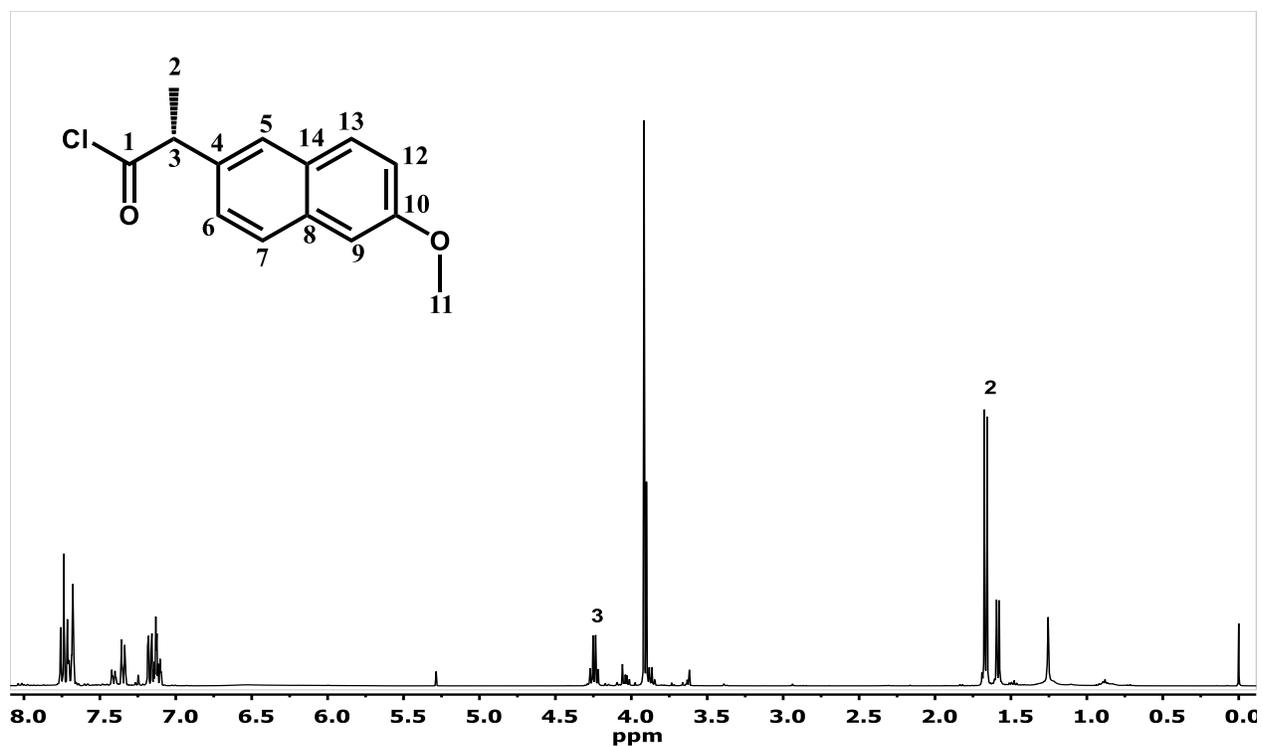


Figura 21. Espectro de RMN ^1H del compuesto 14.

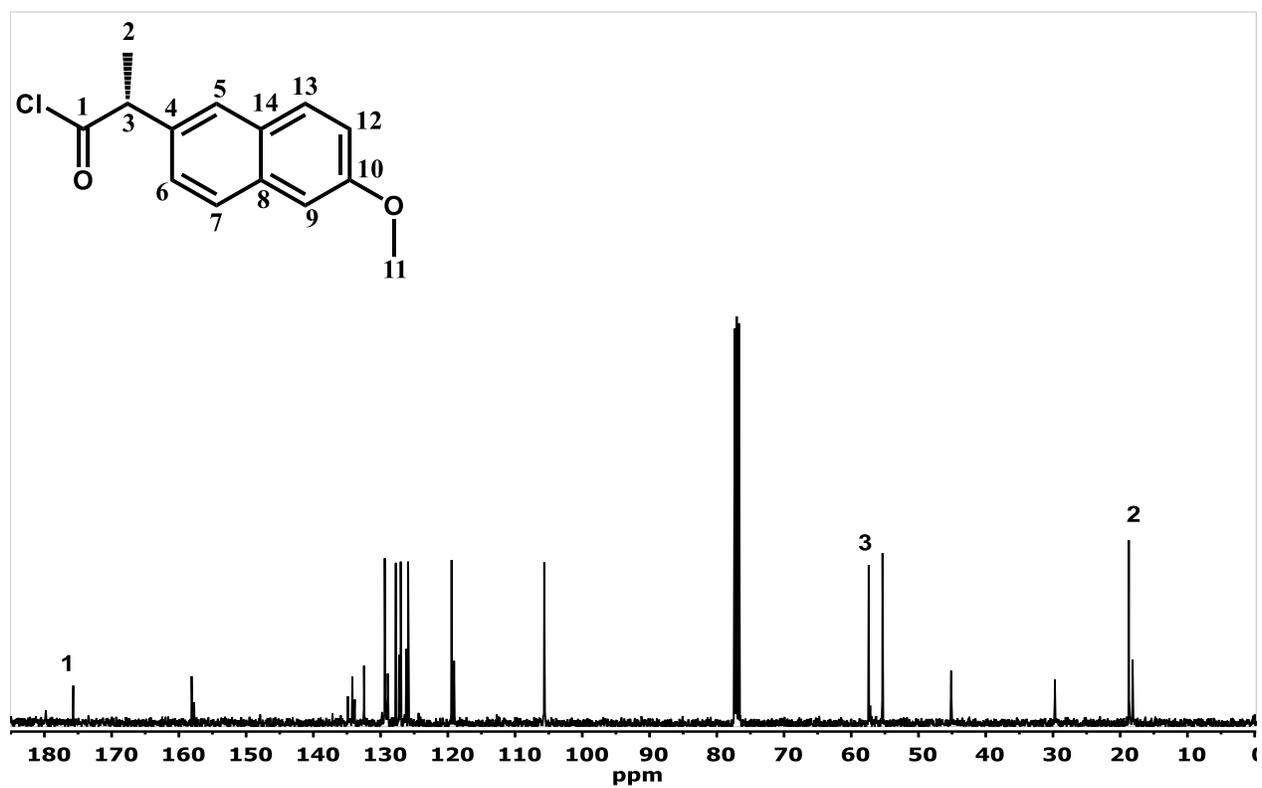
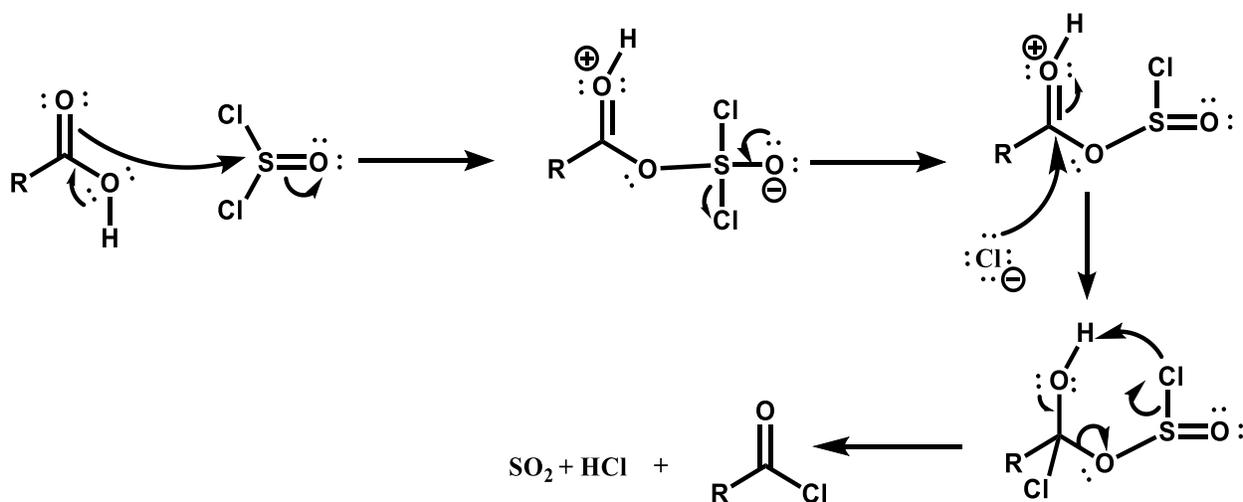


Figura 22. Espectro de RMN ^{13}C del compuesto 14.

Con base en las señales de los espectros de ^1H y ^{13}C tanto del naproxeno ácido como el cloruro del naproxeno, específicamente el desplazamiento del cuadruplete del metino de 3.87 a 4.24 ppm, se confirmó la formación del cloruro de ácido; además, que la estereoquímica del fármaco se mantuvo (estereoisómero S).

2.2.1. Mecanismo de reacción de formación de cloruro de ácido

El mecanismo de reacción de la cloración inicia con el ataque nucleofílico del ácido al azufre del cloruro de tionilo dando como resultado la formación de un clorosulfito de acilo protonado y la salida de un cloruro. Posteriormente se da el ataque nucleofílico del cloruro al carbonilo del ácido carboxílico para formar el cloruro de acilo correspondiente óxido de azufre y cloruro de hidrógeno. (Esquema 12).



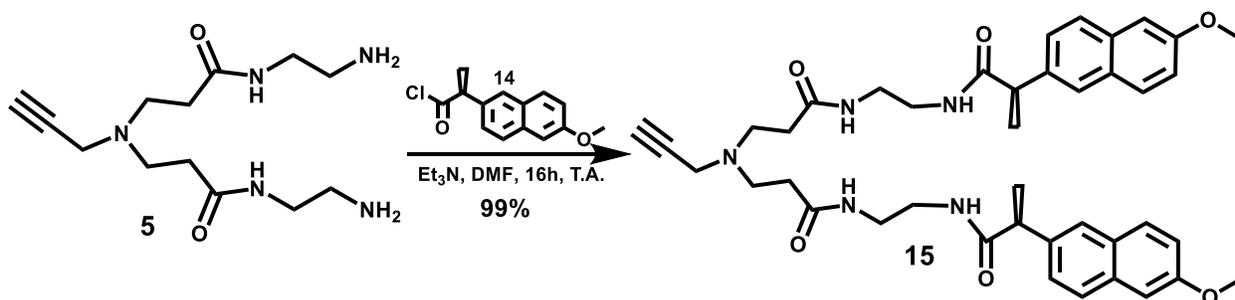
Esquema 12. Mecanismo de reacción para formación del cloruro del naproxeno
14.

Con base en el análisis de los espectros de RMN de ^1H , ^{13}C se puede concluir que se realizó la formación del cloruro del naproxeno con buenos rendimientos.

Una vez realizada la formación del cloruro de ácido del naproxeno y de los dendrones de primera y segunda generación con la propargilamina y la etanolamina es que nos propusimos obtener los conjugados.

2.3. Síntesis del conjugado dendrimérico G1.0 de propargilamina con naproxeno 15 (formación de amida)

El compuesto **15** fue obtenido mediante una reacción de formación de amida entre el cloruro de ácido del naproxeno **14** y las aminas terminales del dendrón G1.0 de propargilamina **5**. Primero el dendrón fue disuelto en DMF junto con trietilamina y posteriormente se adicionó el cloruro del ácido, dejándose la reacción en agitación constante por 16 horas (Esquema 13).



Esquema 13. Síntesis del conjugado dendrimérico G1.0 de propargilamina con naproxeno. **15**

Inicialmente, el conjugado dendrimérico **15** fue caracterizado por RMN de ^1H (Figura 23), en donde se observa: a 7.68 ppm un multiplete correspondiente a protones aromáticos y protones de amida; a 7.40 ppm un doble de dobles con constantes de acoplamiento $J= 8.49$ Hz y $J= 1.75$ Hz correspondiente a un protón aromático; a 7.15 ppm un doblete con constante de acoplamiento $J= 2.30$ Hz correspondiente a un protón aromático; a 7.08 ppm un doble de dobles con constantes de acoplamiento $J= 8.98$ Hz y $J= 2.50$ Hz correspondiente a un protón aromático; un singulete a 3.85 ppm correspondiente al O-CH_3 (12); a 3.73 ppm un cuadruplete con constante de acoplamiento $J= 7.06$ Hz correspondiente al CH del estereoisómero (10); a 3.28 ppm una señal ancha correspondiente al CH_2 unido a alquino (3); a 3.25 ppm un multiplete correspondiente a los CH_2 unidos a amida (7 y 8); a 2.62 ppm un multiplete correspondiente a los CH_2 unidos a nitrógeno y al CH del alquino terminal (4 y 1); a 2.17 ppm un triplete con constante de acoplamiento $J= 6.51$ Hz correspondiente a los CH_2

unidos a carbonilo (5) y, a 1.49 ppm un doblete con constante de acoplamiento $J=7.10$ Hz correspondiente al CH_3 (10).

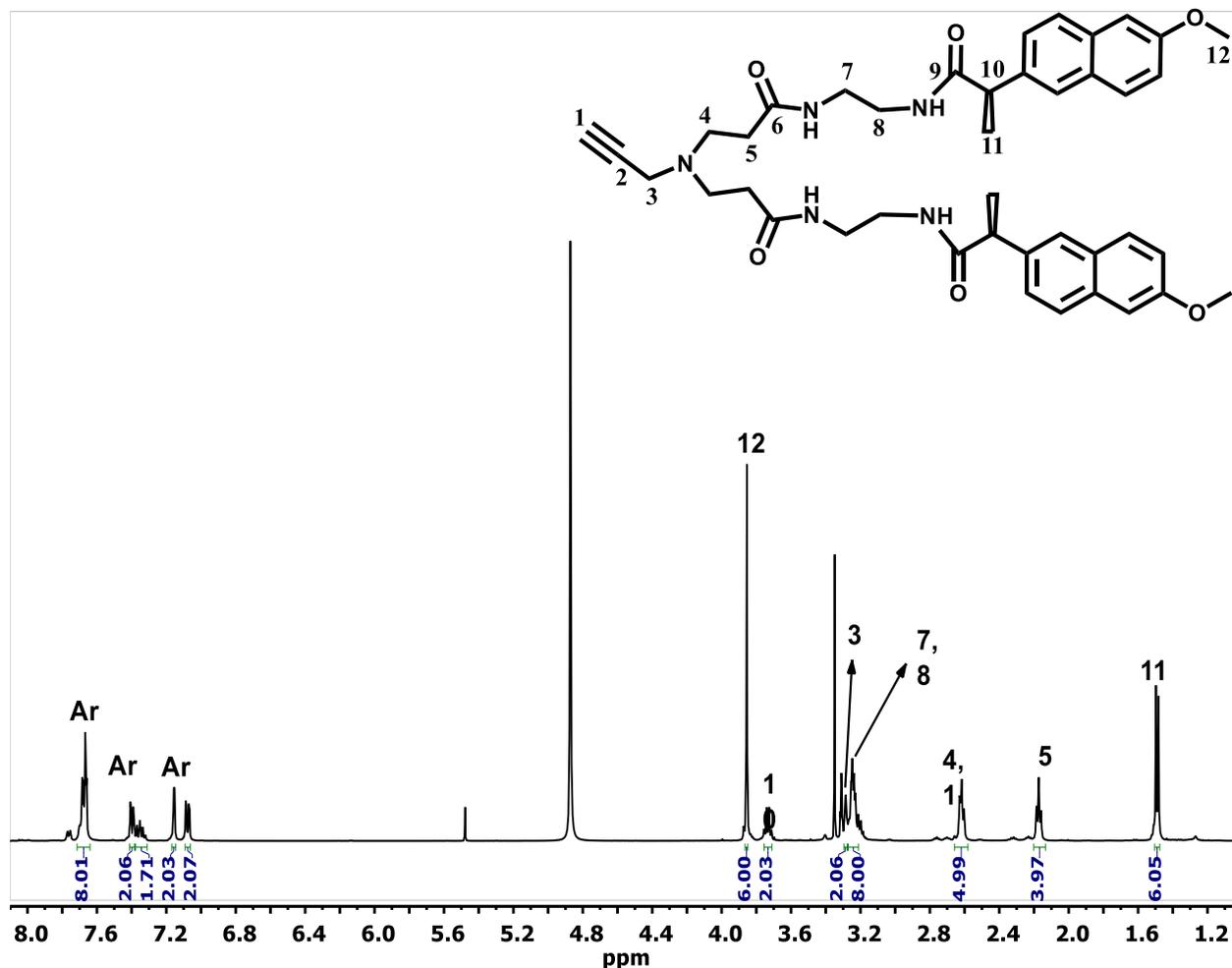


Figura 23. Espectro de RMN ^1H del compuesto 15.

Finalmente, el compuesto **15** fue caracterizado por espectrometría de masas FAB^+ (Figura 24). En el espectro se observa el ión molecular $[\text{M}]^+$ con una relación masa/carga de 708 correspondiente al peso molecular del compuesto.

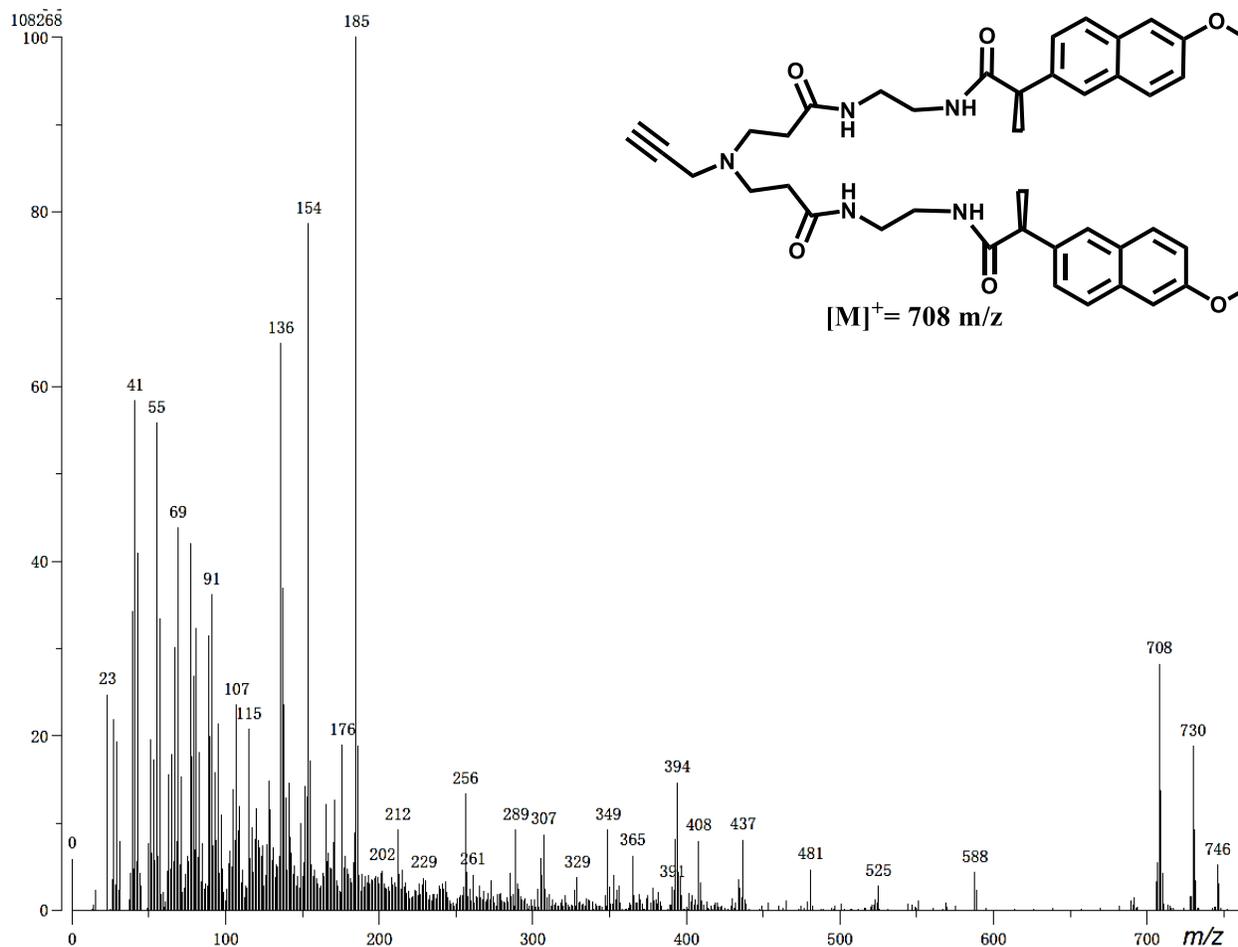
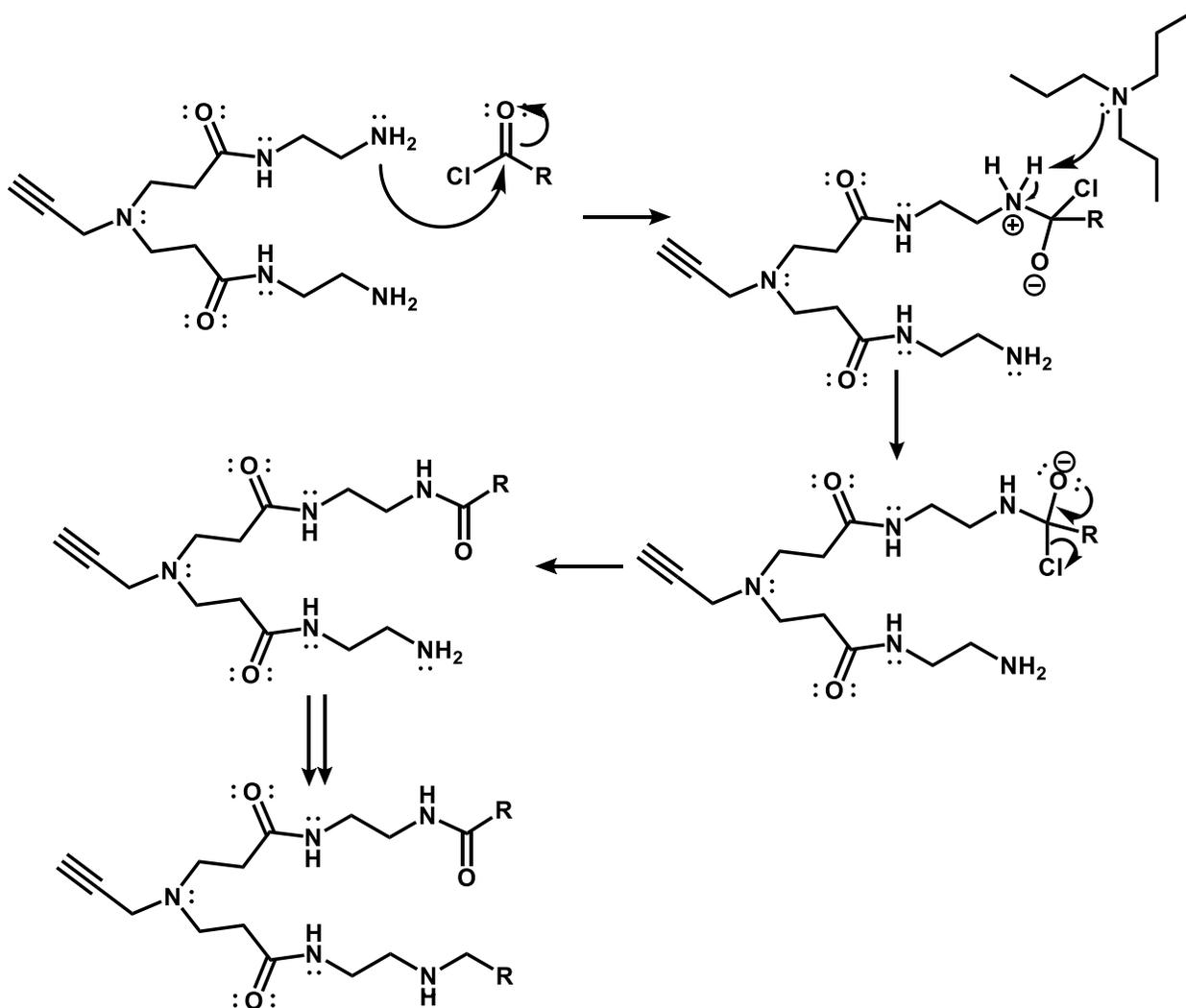


Figura 24. Espectro de masas FAB⁺ del compuesto 15.

2.3.1. Mecanismo de reacción de formación de amida

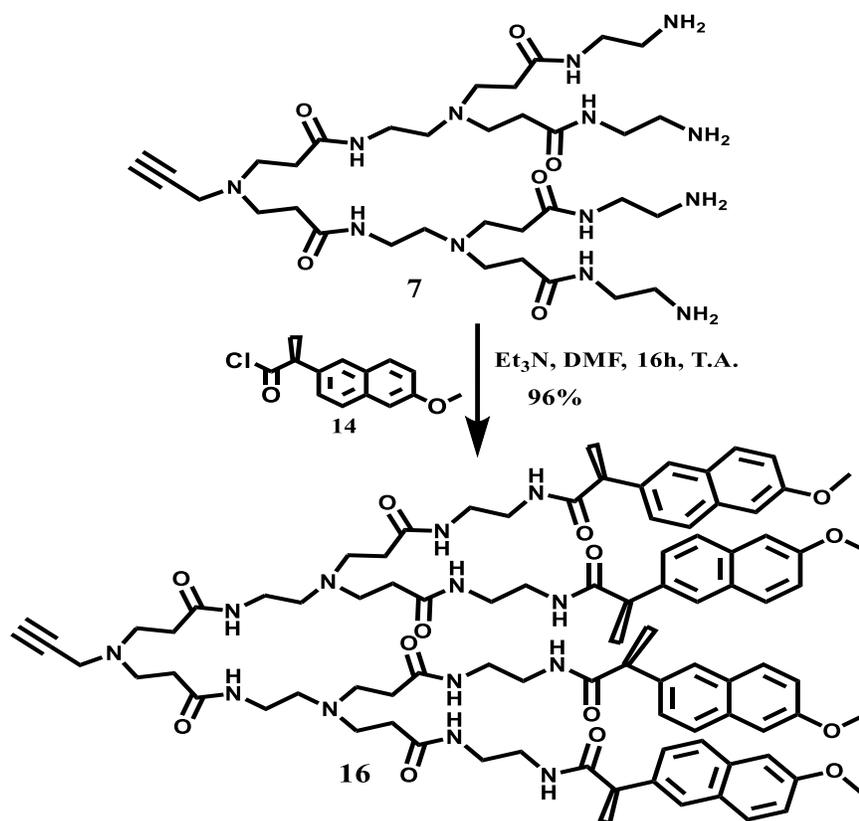
El mecanismo de reacción de la formación de la amida inicia con el ataque nucleofílico de una de las aminas terminales del dendrón al carbonilo del cloruro de ácido del naproxeno para formar el intermediario tetraédrico. El par de electrones regresa para sacar al cloruro y dejar formada la amida. Finalmente, la trietilamina funciona como base para abstraer el protón de la amina cuaternaria del dendrón y formar una sal cuaternaria de amonio (Esquema 14).



Esquema 14. Mecanismo de reacción para la formación de la amida en el conjugado dendrimérico 15.

2.4. Síntesis del conjugado dendrimérico G2.0 de propargilamina con naproxeno 16 (formación de amida)

El compuesto **16** fue obtenido mediante una reacción de formación de amida entre el cloruro de ácido del naproxeno **14** y las aminas terminales del dendrón G2.0 de propargilamina **7**. Primero el dendrón fue disuelto en DMF junto con trietilamina y posteriormente se adicionó el cloruro del ácido, dejándose la reacción en agitación constante por 16 horas (Esquema 15).



Esquema 15. Síntesis del conjugado dendrimérico G2.0 de propargilamina con naproxeno **16**.

Inicialmente, el compuesto **16** fue caracterizado por espectroscopía infrarroja (FTIR) (Figura 25), en donde se observa: una banda ancha a 3280 cm^{-1} correspondientes a las vibraciones de: alquino terminal, hidrógenos de amidas; una banda a 3368 cm^{-1}

correspondiente a la vibración de enlaces saturados; cuatro bandas a (2970 y 2935) y (2877 y 2851) cm^{-1} que corresponden a las vibraciones de los CH_2 y CH_3 ; una banda a 1639 correspondiente a la vibración de los carbonilos de amida con el fármaco; una banda a 1606 correspondiente a las amidas internas del dendrón y una banda a 1562 cm^{-1} correspondiente al estiramientos simétricos de los enlaces N-C=O .

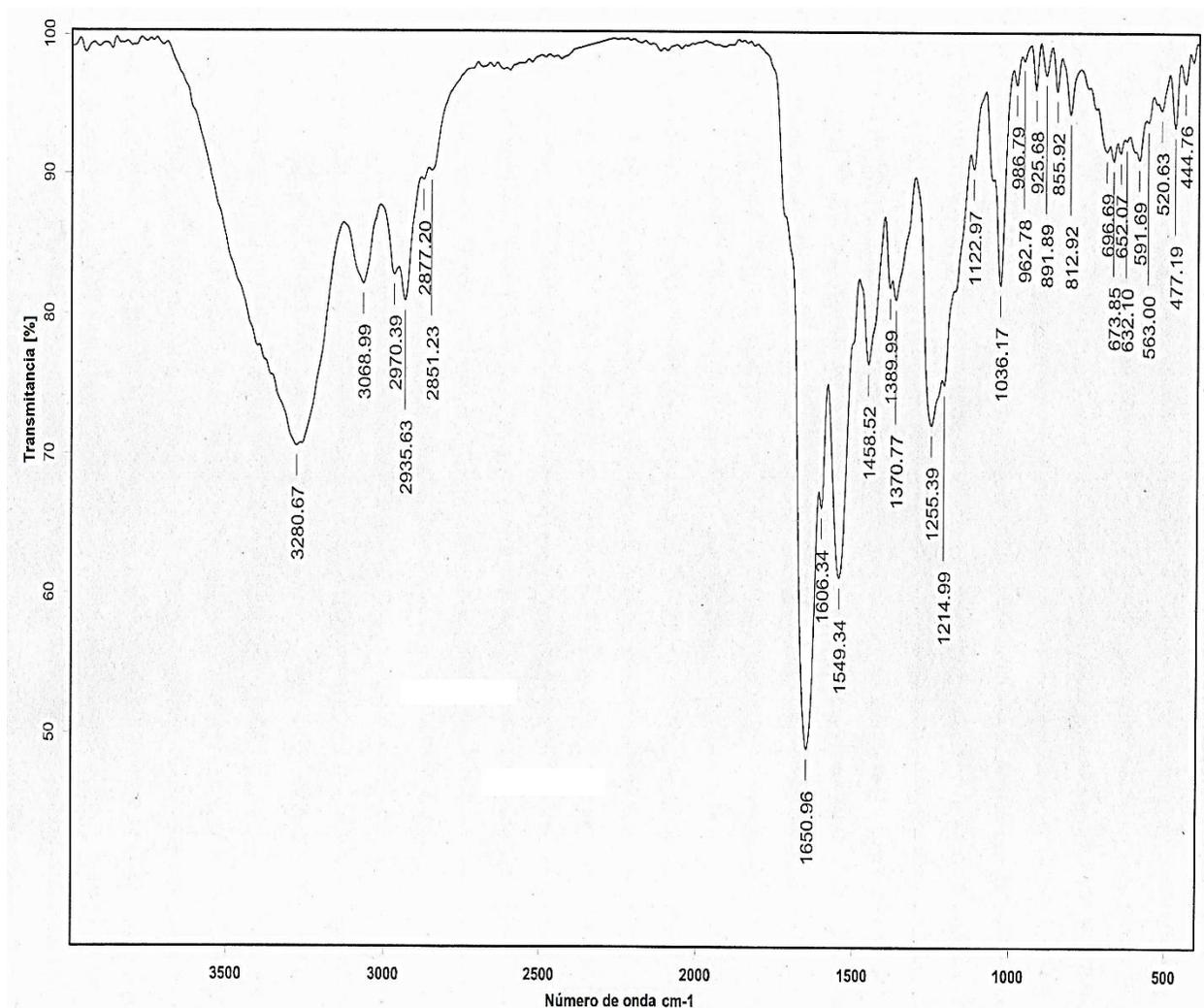


Figura 25. Espectro de FT-IR del compuesto 16.

El conjugado de segunda generación también fue caracterizado por RMN en dos dimensiones en la Figura 26 se presenta el espectro 2D HSQC de ^1H y ^{13}C solo en un área seleccionada, en donde se puede observar la correlación entre los grupos CH_3 , $\text{O}-\text{CH}_3$ y CH del naproxeno con su carbono (en rojo) y la correlación entre los grupos CH_2 de los brazos dendríticos unidos a amidas y a carboxilos (en azul).

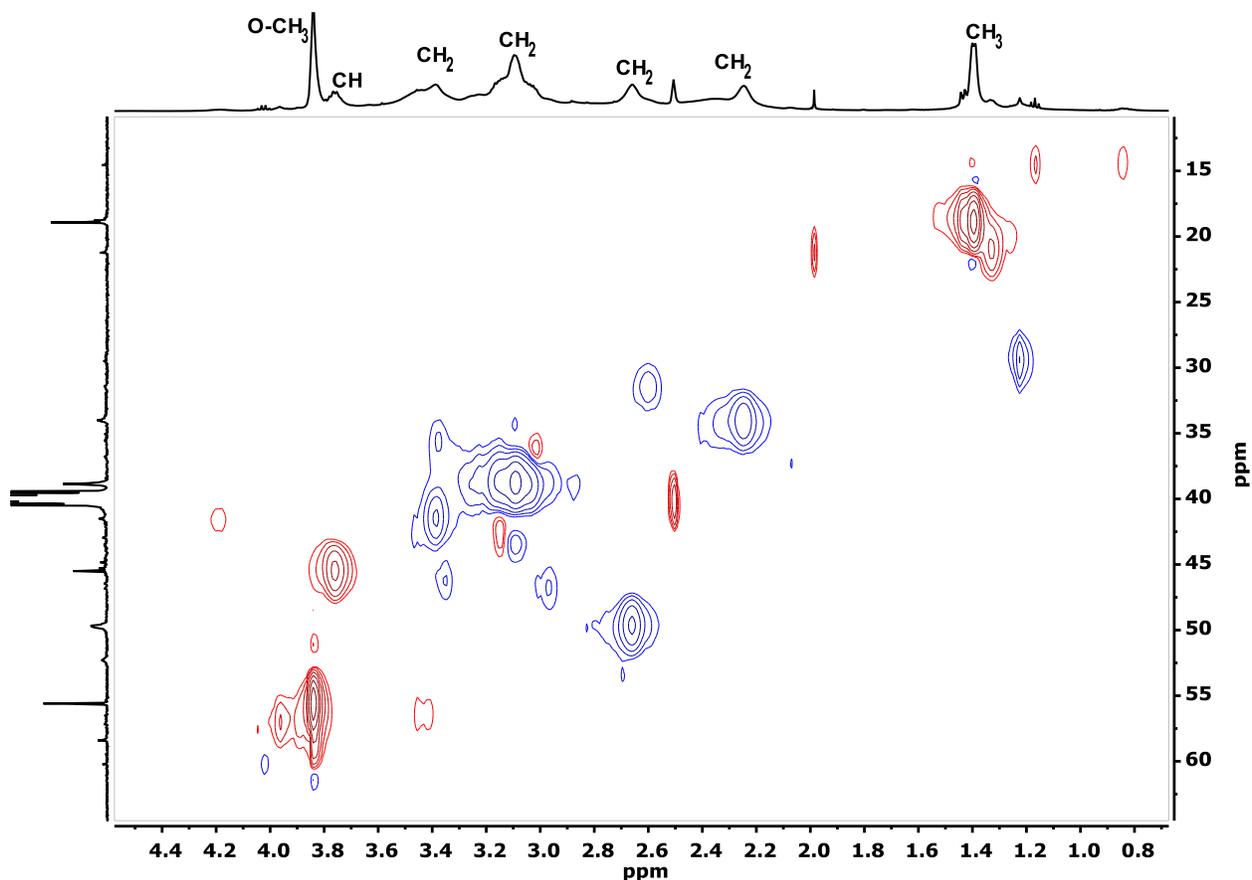


Figura 26. 2D HSQC RMN de ^1H y ^{13}C del conjugado **16**.

Finalmente, el compuesto **16** fue caracterizado por espectrometría de masas MALDI-TOF (Figura 27). En el espectro se observa el ión molecular $[\text{M}]^+$ con una relación masa/carga de 1589.60 correspondiente al peso molecular del compuesto.

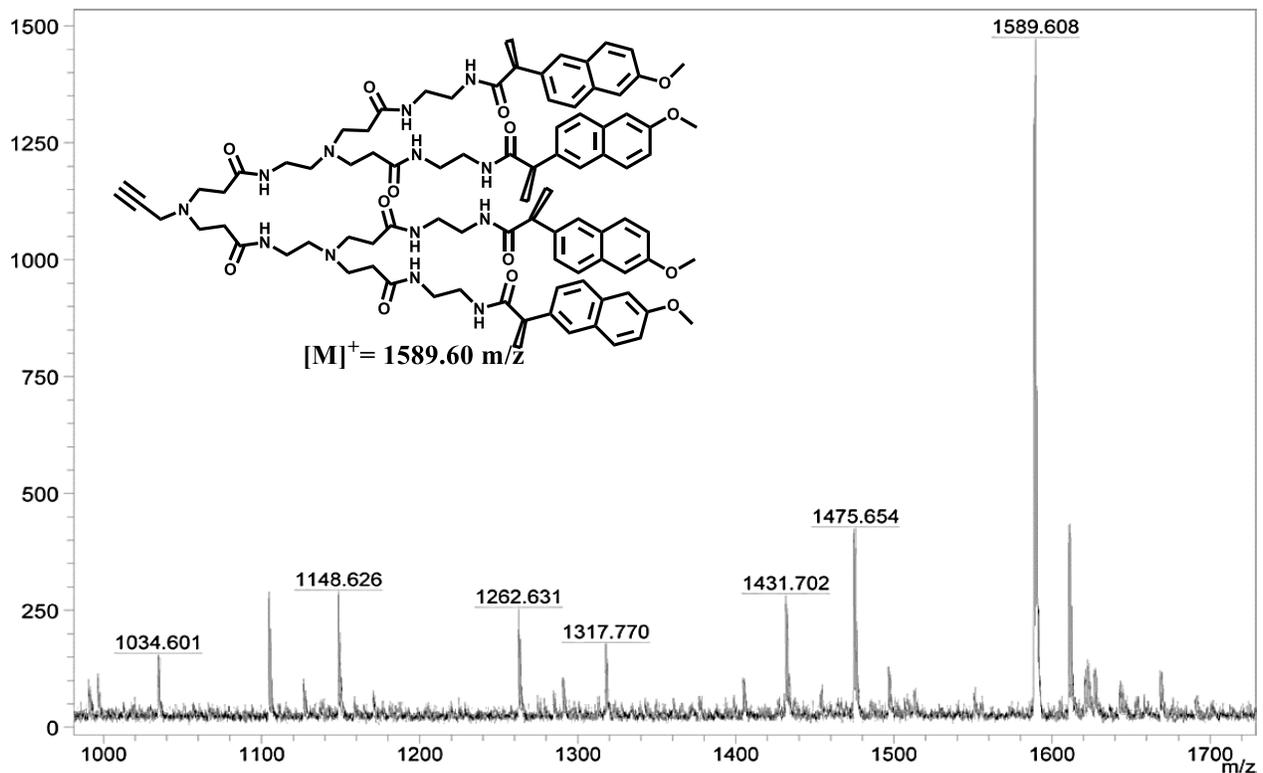
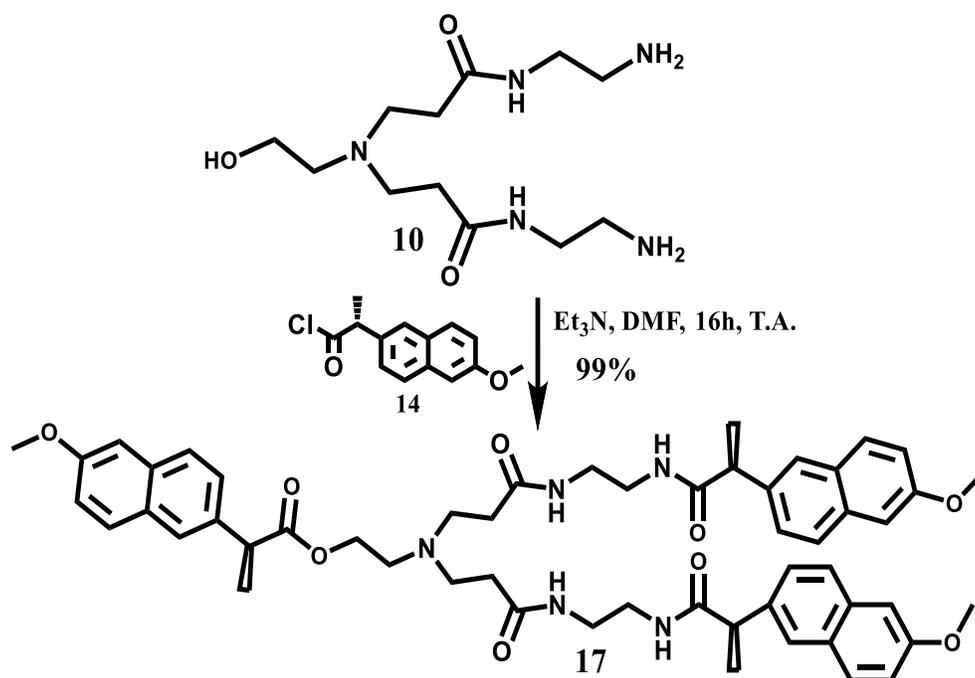


Figura 27. Espectro de masas MALDI-TOF del compuesto 16.

Con base a los resultados obtenidos por RMN en 1D y 2D, FTIR y espectrometría de masas se puede concluir que se obtuvieron los conjugados dendriméricos de primera y segunda generación a partir de la propargilamina con 2 y 4 moléculas de naproxeno en la periferia en buenos rendimientos. Sin embargo, el conjugado dendrimérico de primera generación se obtuvo en mejores rendimientos que la segunda. Esto debido a que en la primera generación sólo se tienen dos sitios de acoplamiento mientras que en la segunda generación se tienen cuatro; de tal forma que, a mayor número de sitios activos, se dificulta la el acoplamiento completo en la molécula dando como resultado posibles productos incompletos.

2.5. Síntesis del conjugado dendrimérico G1.0 de etanolamina con naproxeno 17 (formación de amida y éster)

El compuesto **17** fue obtenido mediante una reacción de formación de amida entre el cloruro de ácido del naproxeno **14** y las aminas terminales del dendrón G1.0 de etanolamina **10**. Primero el dendrón fue disuelto en DMF junto con trietilamina y posteriormente se adicionó el cloruro del ácido, dejándose la reacción en agitación constante por 16 horas (Esquema 16).



Esquema 16. Síntesis del conjugado dendrimérico G1.0 de etanolamina con naproxeno 17.

Inicialmente, el compuesto **17** fue caracterizado por RMN de ^{13}C (Figura 28), en donde se observa: una señal a 177.10 ppm correspondiente al carbono del carbonilo de éster (8'); una señal a 175.57 ppm correspondiente al carbono del carbonilo de amida con el fármaco (8); una señal a 175.49 ppm correspondiente al carbono del carbonilo de amida del dendrón (5); un grupo de señales pares correspondientes a los carbonos de los anillos aromáticos: (157.35 y 157.53), (136.89 y 136.69), 135.84, (133.70 y 133.65),

(129.26, 129.22), (128.85 y 128.81), (127.11 y 127.00), (126.36 y 126.18), (126.01 y 125.92), (118.99 y 118.93) y 105.58 ppm; una señal a 56.92 ppm correspondiente al O-CH₂ (1); un par señales (55.31 y 55.28) ppm correspondientes a los O-CH₃ de naproxeno (11 y 11'); una señal a 50.18 ppm correspondiente al N-CH₂ (2); una señal a 46.29 ppm correspondiente a los CH₂ unidos a amidas (5 y 6); un par de señales (45.89 y 48.89) ppm correspondiente a los CH de naproxeno (9 y 9'); una señal a 39.73 ppm correspondiente a los CH₂ unidos a nitrógeno (3); una señal a 38.99 ppm correspondiente a los CH₂ unidos a carbonilo (4) y un par de señales (18.47 y 18.47) ppm correspondiente a los CH₃ de naproxeno (10 y 10').

Como se puede observar en el espectro de RMN de ¹³C la presencia de 3 moléculas de naproxeno en la estructura no simétricos, las señales del naproxeno dan por pares y es porque de un lado el naproxeno está unido con enlace tipo amida y del otro lado con un enlace tipo éster por lo que existe una ligera diferencia haciendo que las señales resulten como pares en vez de señales únicas.

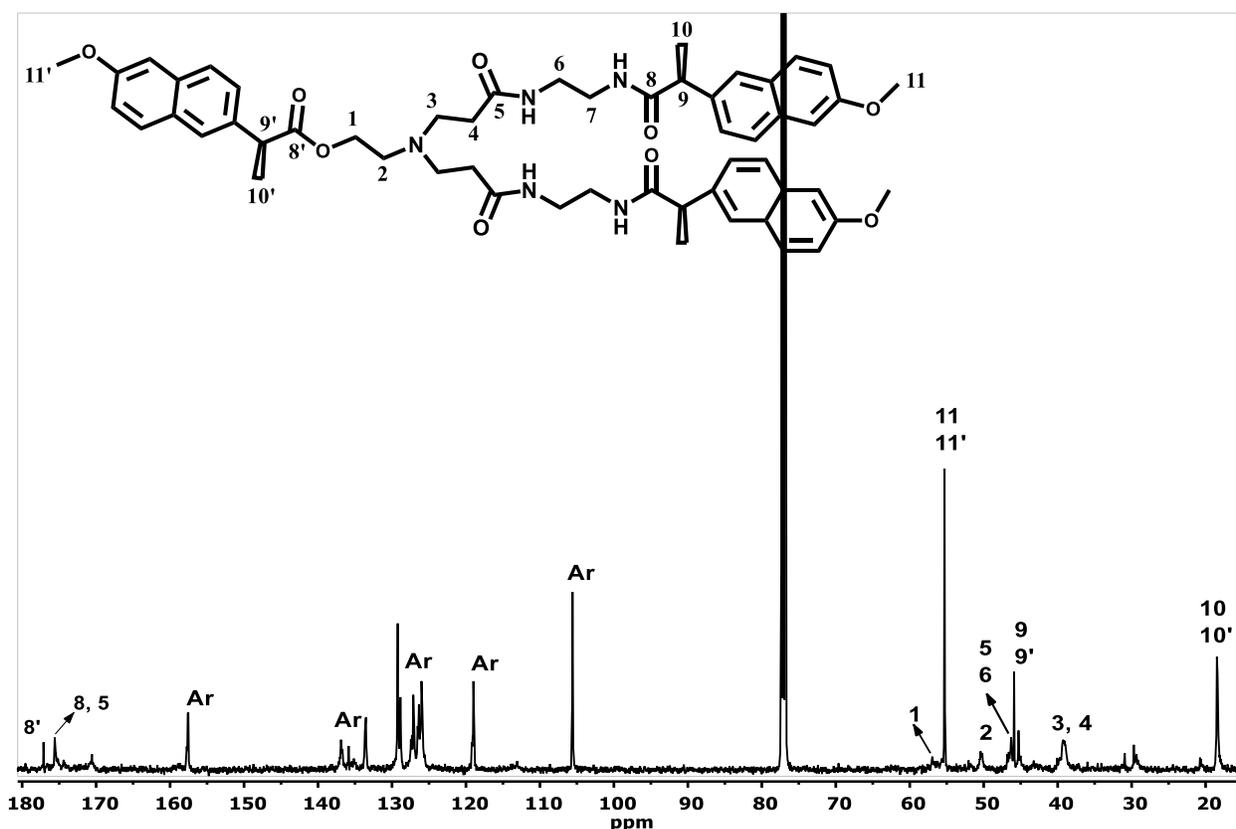


Figura 28. Espectro de RMN ¹³C del compuesto 17.

También, el compuesto **17** fue caracterizado por espectrometría de masas MALDI-TOF (Figura 29). En el espectro se observa el ión molecular $[M-2]^+$ con una relación masa/carga de 926.47 correspondiente al peso molecular del compuesto menos dos

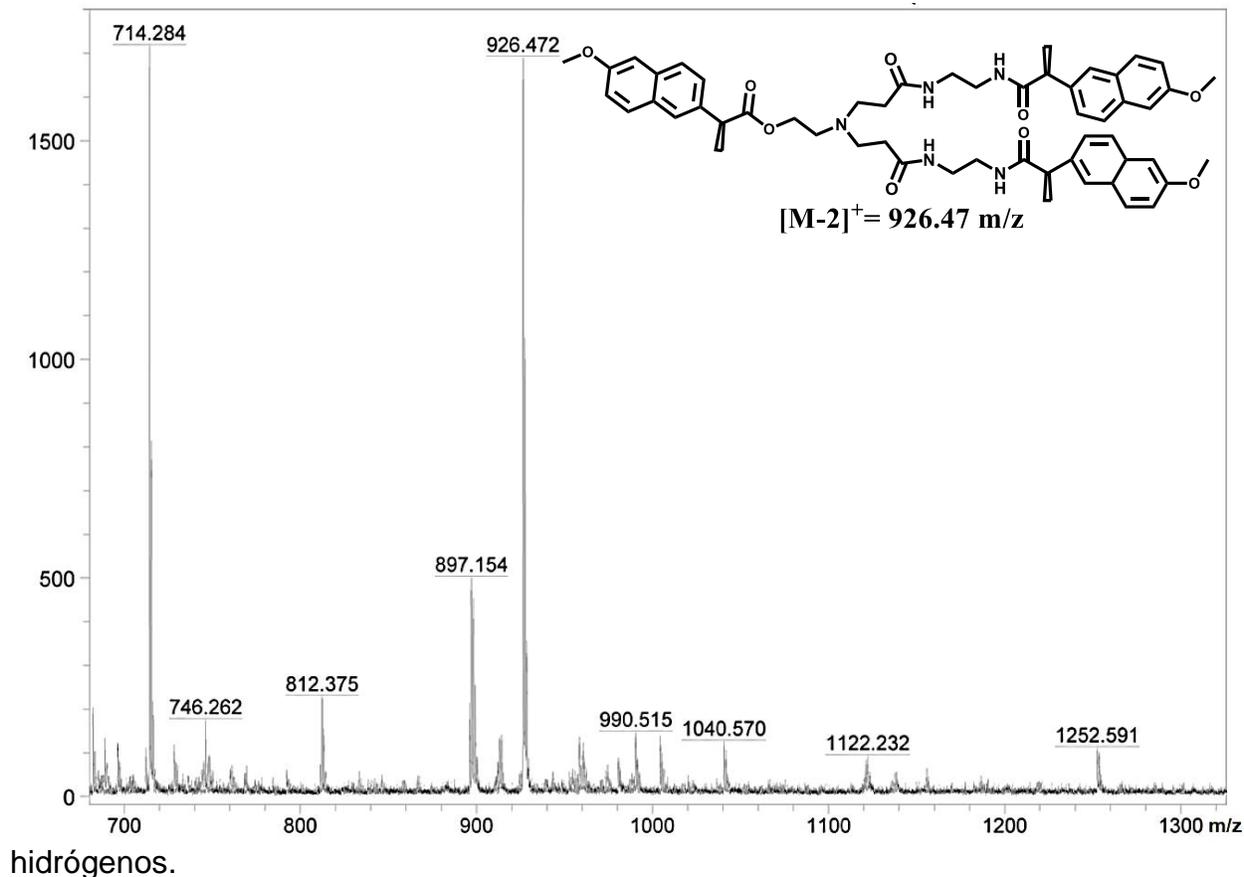


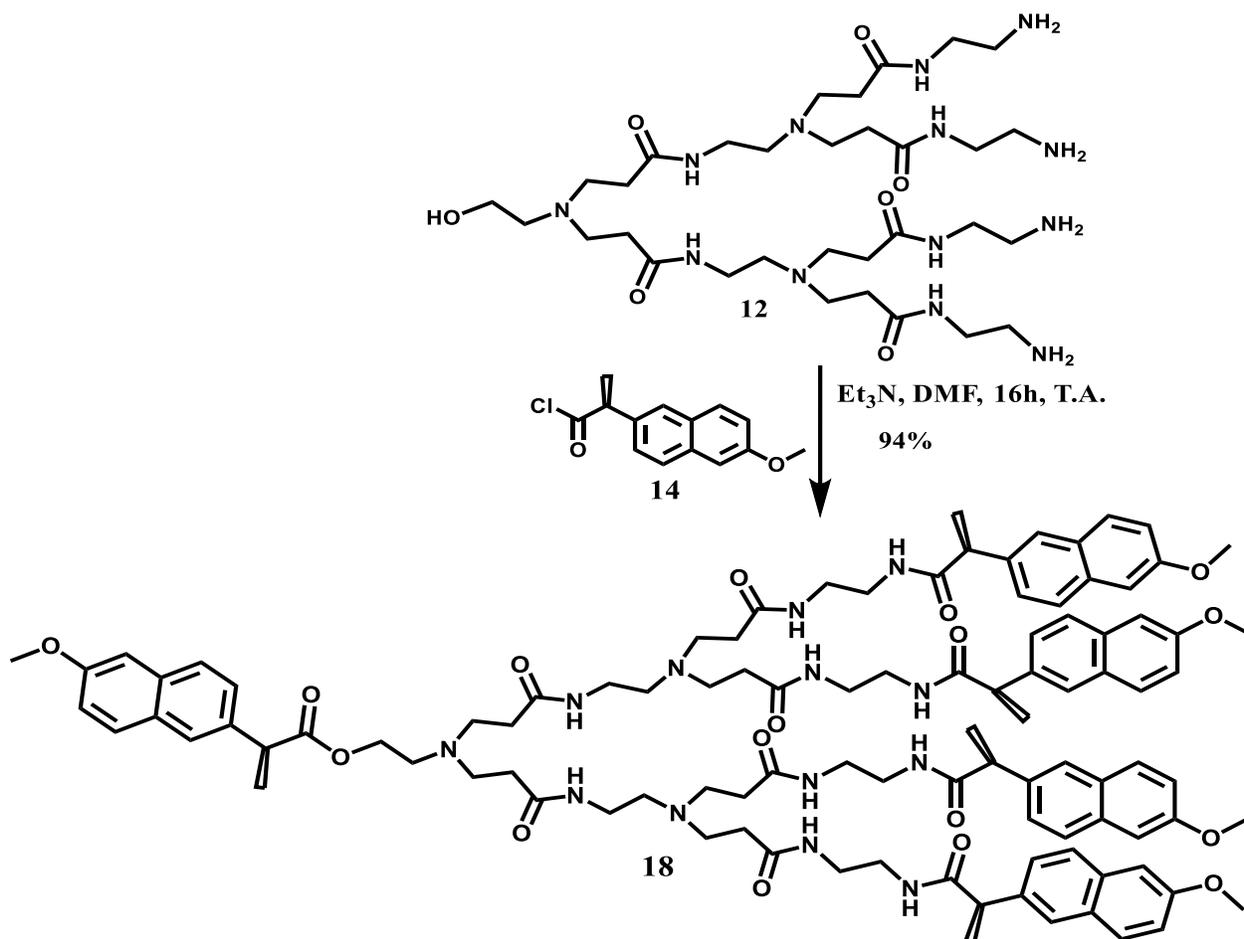
Figura 29. Espectro de masas MALDI-TOF del compuesto **17**.

Se obtuvo el conjugado de primera generación con tres moléculas de naproxeno en su estructura, observándose que RMN de ^1H y ^{13}C que las señales características del naproxeno aparecen por pares. Además, se observó que la reacción de amidación y de eterificación ocurren al mismo tiempo cuando se usa un cloruro de ácido con DMF y trietilamina como disolventes.

Una vez realizada la síntesis del conjugado de primera generación con la etanolamina PAMAM es que nos propusimos obtener el conjugado de segunda generación.

2.6. Síntesis del conjugado dendrimérico G2.0 de etanolamina con naproxeno 18 (formación de amida y éster)

El compuesto **18** fue obtenido mediante una reacción de formación de amida entre el cloruro de ácido del naproxeno **14** y las aminas terminales del dendrón G2.0 de etanolamina **12**. Primero el dendrón fue disuelto en DMF junto con trietilamina y posteriormente se adicionó el cloruro del ácido, dejándose la reacción en agitación constante por 18 horas (Esquema 17).



Esquema 17. Síntesis del conjugado dendrimérico G2.0 de etanolamina con naproxeno 18.

Inicialmente, el compuesto **18** fue caracterizado por espectroscopía infrarroja (FTIR) (Figura 30), en donde se observa: una banda ancha a 3285 cm^{-1} correspondientes a las vibraciones de: hidrógenos de amidas y al OH terminal; una banda a 3065 cm^{-1} correspondiente a la vibración de enlaces saturados; tres bandas a 2969 , 2937 y 2842 cm^{-1} que corresponden a las vibraciones de los CH_3 y CH_2 ; una hombro a aproximadamente 1720 cm^{-1} que corresponde a la vibración del carbonilo de éster; una banda a 1650 cm^{-1} correspondiente a la vibración de los carbonilos de amida con naproxeno; un hombro a 1607 cm^{-1} que corresponde a la vibración de los carbonilos de amida internos del dendrón y una banda a 1562 cm^{-1} correspondiente al estiramientos simétricos de los enlaces N-C=O .

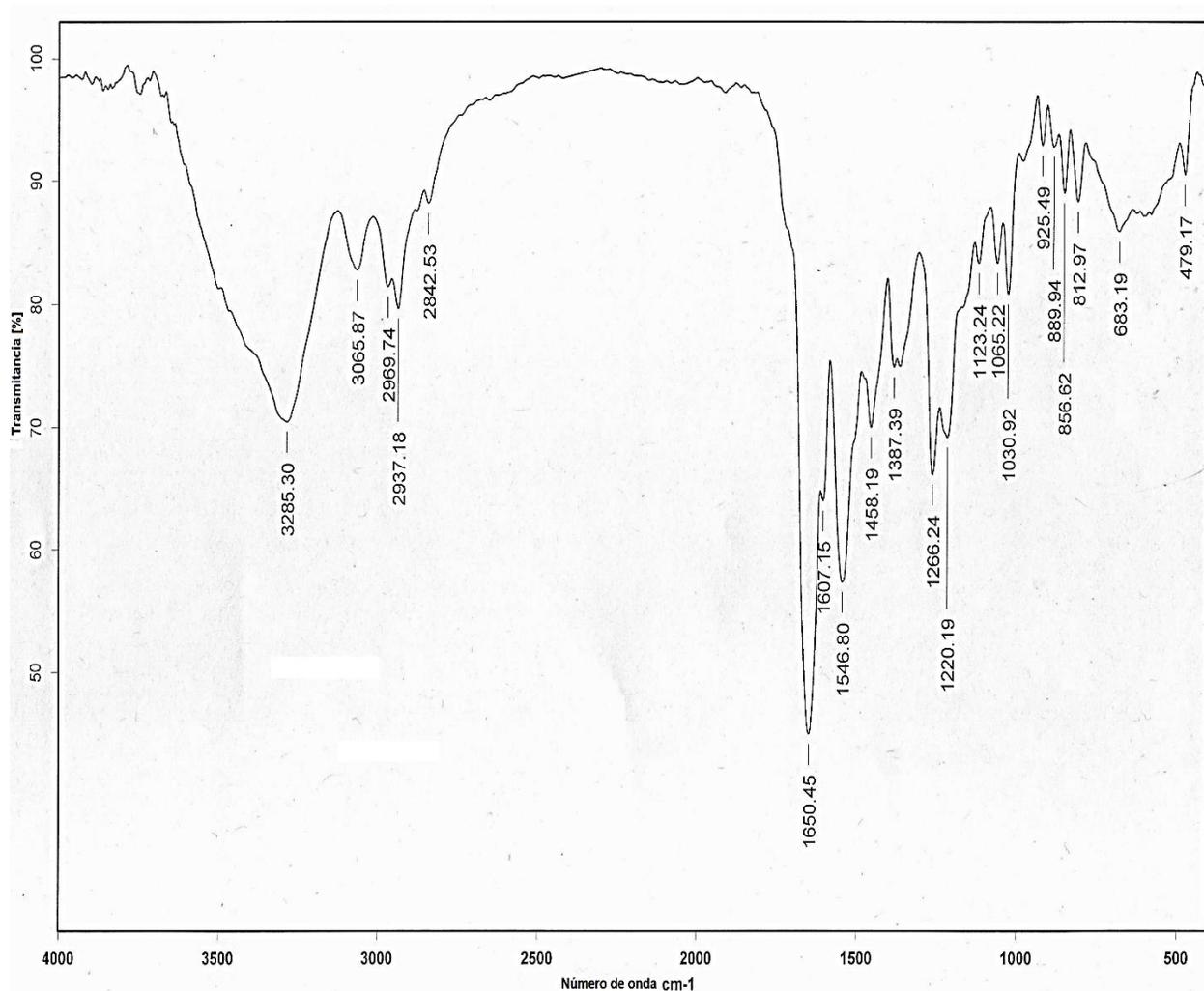


Figura 30. Espectro de FT-IR del compuesto **18**.

Finalmente, el compuesto **18** fue caracterizado por espectrometría de masas MALDI-TOF (Figura 31). En el espectro se observa el ión molecular $[M+3]^+$ con una relación masa/carga de 1810.82 correspondiente al peso molecular del compuesto más tres protones.

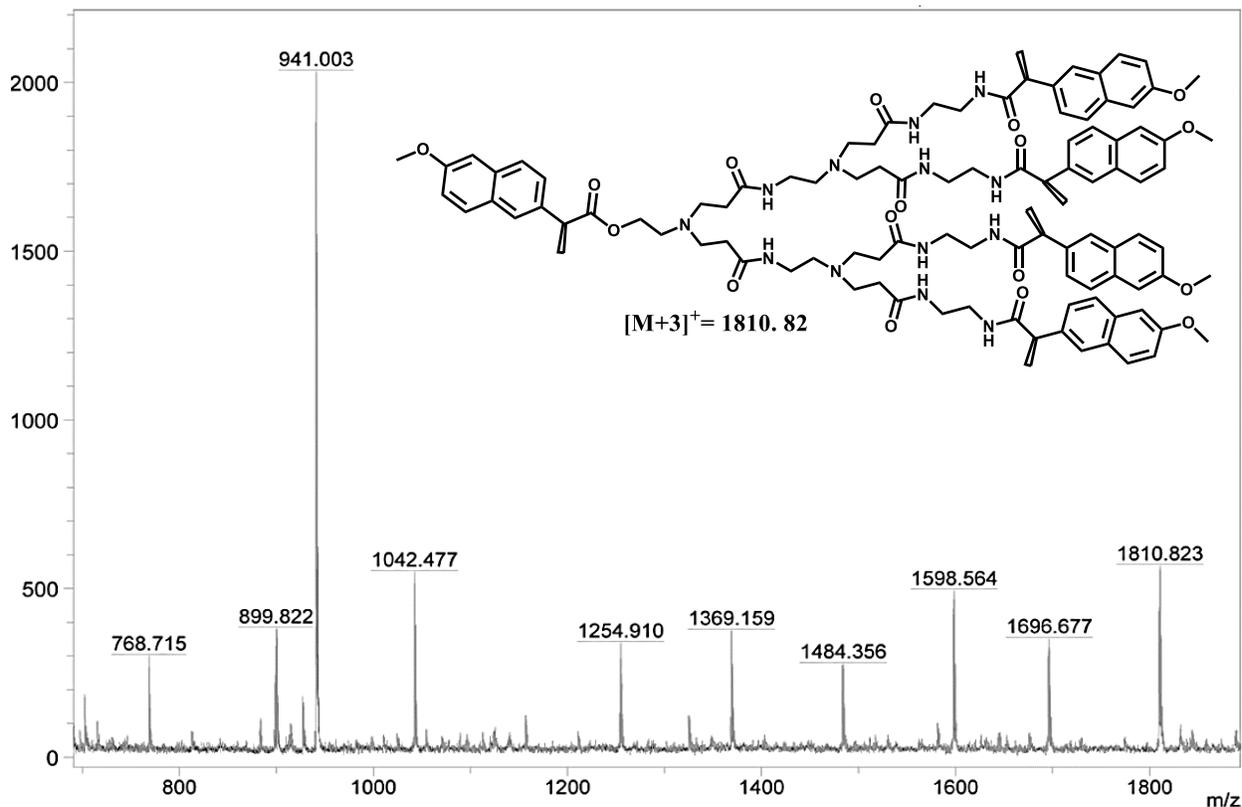


Figura 31. Espectro de masas MALDI-TOF del compuesto **18**.

Con base a los resultados obtenidos por RMN en 1D, FTIR y espectrometría de masas se puede concluir que se obtuvieron los conjugados dendriméricos de primera y segunda generación a partir de la etanolamina con 3 y 5 moléculas de naproxeno en la periferia en buenos rendimientos. Sin embargo, de la misma manera que sucedió con los conjugados derivado de la propargilamina, el conjugado dendrimérico de primera generación se obtuvo en mejores rendimientos que la segunda. También, esto debido a que en la primera generación sólo se tienen tres sitios de acoplamiento mientras que en la segunda generación se tienen cinco; de tal forma que, a mayor número de sitios activos, se dificulta la el acoplamiento completo en la molécula dando como resultado posibles productos incompletos.

Finalmente, se confirma la formación de tanto los enlaces amida como el enlace éster cuando se acopla el fármaco. Esto debido a que los cloruros de ácido reaccionan inespecíficamente tanto con aminas como con alcoholes. Aun así, se necesitó usar un pequeño exceso de cloruro de acilo para evitar competencia entre las aminas y el alcohol y evitar defectos en los conjugados dendriméricos.

Una vez obtenidos y caracterizados los 4 conjugados dendriméricos con naproxeno se procedió a hacer pruebas de actividad biológica para determinar si son candidatos para su utilización como anticancerígenos.

3.1. Pruebas de actividad biológica de los conjugados dendríméricos

Desde finales del siglo pasado se han encontrado aplicaciones al naproxeno además de las conocidas como antiinflamatorio y como antipirético. Una de ellas es su utilización en terapia anticancerígena y, de manera más reciente, el uso sinérgico del naproxeno con dendrímeros de varios tipos.

Algunos ejemplos del uso de dendrímeros con naproxeno son: dendrímeros micelares ⁷⁹, dendrímeros PAMAM con JEFFAMINE T-3000⁸⁰ y dendrímeros mixtos^{83, 84}. En todos estos desarrollos de conjugados dendríméricos se ha observado que la actividad anticancerígena aumenta sustancialmente con respecto al uso del naproxeno en su forma libre.

Con base en esta información se decidió hacer pruebas de actividad biológica de los conjugados dendríméricos sintetizados.

3.1.1. Ensayos de citotoxicidad en células cancerígenas humanas

Los conjugados dendríméricos **15-18** (Figuras 32 y 33) fueron probados en un estudio de citotoxicidad en líneas celulares cancerígenas humanas a una concentración de: 10 μM (Screening primario) usando como vehículo DMSO (Tabla 1).

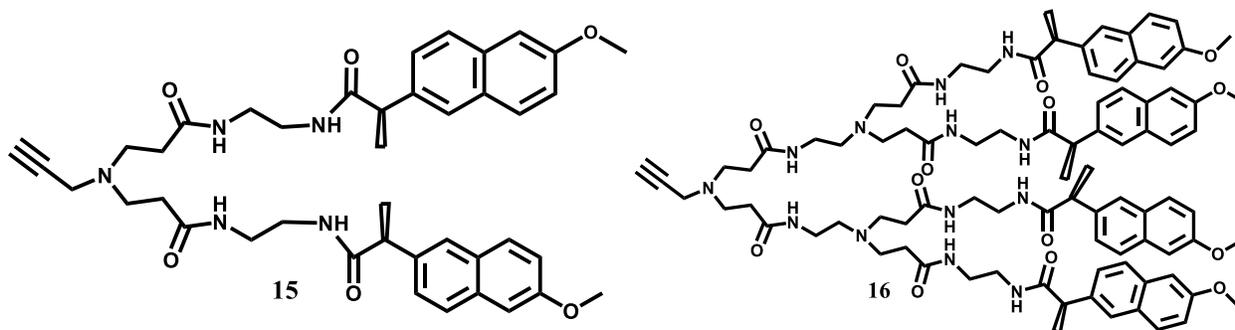


Figura 32. Estructuras de los compuestos **15** y **16**.

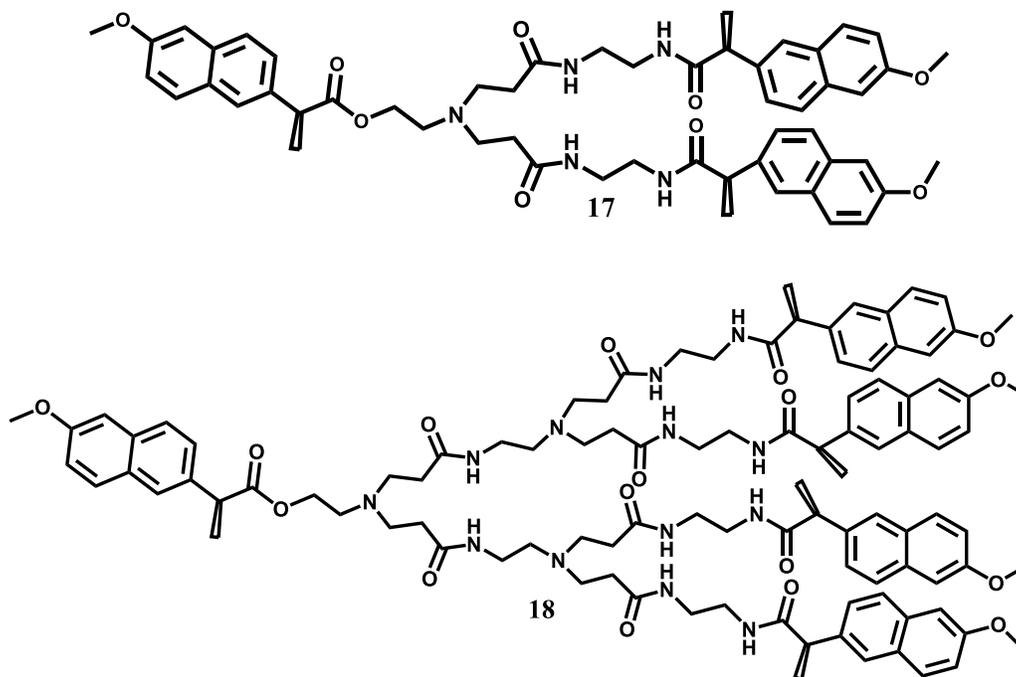


Figura 33. Estructuras de los compuestos 17 y 18.

Tabla 1. Inhibición de crecimiento (%) en líneas celulares cancerosas humanas de los compuestos 15, 16, 17 y 18 a una concentración de 10 μ M.

Compuesto	Línea celular/ inhibición del crecimiento (%)					
	U251	K562	HCT-15	MCF-7	SKLU-1	COS7
17	NC	26.40	NC	NC	NC	NC
18	NC	35.60	NC	NC	NC	NC
15	NC	23.10	13.20	12.40	NC	NC
16	NC	29.90	17.50	23.50	NC	1.90
Naproxeno	NC	1.76	0.23	2.43	NC	NC
<i>cis</i> -platino	87.49	79.15	32.42	32.42	82.35	49.39

U251 (Glía de sistema nervioso central), K562 (Leucemia), HCT-15 (Colon), MCF-7 (Mama), SKLU (Pulmón). COS-7 (Línea celular de riñón de mono; no cancerosa). NC: no citotóxica

Con base en los resultados obtenidos del screening primario a 10 μ M se observa que los conjugados dendriméricos tienen actividad sólo contra tres tipos de cáncer de los 5 probados. En el caso de los conjugados derivados de la propargilamina, se observa

actividad contra leucemia, cáncer de colon y cáncer de mama. En caso de los conjugados derivados de etanolamina se observa que su actividad es selectiva contra leucemia.

De los conjugados derivados de la propargilamina, para las tres líneas celulares donde se vio actividad, se observa que el % de inhibición aumenta con respecto al aumento de la generación de los conjugados; esto, debido a que la segunda generación tiene 4 moléculas de naproxeno en su estructura mientras que la primera generación sólo tiene 2 moléculas de naproxeno. La mayor diferencia de actividad entre primera y segunda generación se observa contra el cáncer de mama; sin embargo, la mayor actividad la tiene la segunda generación contra leucemia.

Comparando las actividades de los conjugados con respecto a la actividad del *cis*-platino (fármaco de referencia) se observa que la actividad de los conjugados no es tan alta. Por otro lado, la actividad de conjugados con respecto al naproxeno en su forma libre aumenta de manera considerable, como en el caso de la segunda generación contra cáncer de colon que la actividad es casi 80 veces mayor. Cabe destacar que a pesar de que la actividad anticancerígena de los conjugados no es mayor que la del *cis*-platino, la citotoxicidad en células sanas de los conjugados es muchísimo menor que la del *cis*-platino, pues para la segunda generación sólo se observa 1.9% de inhibición y la primera generación no muestra citotoxicidad.

Continuando, para los conjugados derivados de la etanolamina, se observa la alta selectividad de los compuestos contra la leucemia; de igual forma que los compuestos **15** y **16**, se observa que la actividad anticancerígena aumenta con respecto al aumento de la generación lo cual se debe al aumento de moléculas de naproxeno presentes en la molécula; pasando de 3 a 5 moléculas entre primera y segunda generación. En este caso se observa un aumento de actividad del casi 10% entre la primera y la segunda generación. Además, se observa que los conjugados de etanolamina tiene mayor actividad que los de propargilamina, esto debido a mayor cantidad de moléculas de naproxeno.

Con respecto al *cis*-platino, al igual que con los derivados de la propargilamina, el *cis*-platino tiene una mayor actividad contra leucemia que los conjugados; sin embargo, la actividad con respecto al naproxeno libre sí es considerablemente alta (15 y 34 veces

para primera y segunda generación respectivamente); además, ninguno de estos conjugados presenta citotoxicidad en células sanas.

La concentración de 10 μM fue la elegida con base en estudios previos de dendrones con actividad anticancerígena⁶¹⁻⁶⁵. Posteriormente se decidió hacer otro screening a 25 μM para ver cómo aumentaba la actividad anticancerígena (Tabla 2).

Tabla 2. Inhibición de crecimiento (%) en líneas celulares cancerosas humanas de los compuestos **15**, **16**, **17** y **18** a una concentración de 25 μM .

Línea celular/ inhibición del crecimiento (%)			
Compuesto	K562	HCT-15	MCF-7
17	48.37	NC	NC
18	47.68	NC	NC
15	44.30	16.70	38.80
16	49.76	15.80	27.70

K562 (Leucemia), HCT-15 (Colon), MCF-7 (Mama). NC: no citotóxica

De los datos obtenidos del screening a 25 μM se observa un aumento en la actividad de los conjugados. El aumento más pequeño se dio entre los conjugados de propargilamina contra cáncer de colon; mientras que, los aumentos más grandes se dieron contra cáncer de mama y leucemia. En el caso de los conjugados de etanolamina también se observa aumento de actividad con respecto al aumento de concentración de los compuestos.

Se debe destacar que para todos los conjugados, a excepción de **15 y 16** contra leucemia, la primera generación resultó ser más activa que la segunda; un comportamiento contrario al observado en el screening a 10 μM . Este tipo de comportamiento es típico en dendrímeros de altas generaciones⁸³ y, en este caso particular puede deberse a que el tamaño de la molécula es tan grande que a mayores concentraciones más que ayudar, sea perjudicial para la actividad anticancerígena.

Finalmente, aún de que las actividades son menores a las mostradas por el *cis*-platino, debe destacarse su baja toxicidad en células sanas. Por lo que los conjugados dendriméricos son excelentes candidatos para posible quimioterapia.



CONCLUSIONES

- Se sintetizaron los dendrones tipo PAMAM G1.0 y G2.0 partiendo de la propargilamina en buenos rendimientos. La estructura de los dendrones se confirmó a partir de los datos de resonancia magnética nuclear de ^1H , ^{13}C en una y en dos dimensiones, así como por espectrometría de masas.
- Se sintetizaron los dendrones tipo PAMAM G1.0 y G2.0 partiendo de la etanolamina en buenos rendimientos muy similares a los de propargilamina. La estructura de los dendrones, de igual manera, se confirmó a partir de los datos de resonancia magnética nuclear de ^1H , ^{13}C , así como por espectrometría de masas.
- Se realizó la formación del cloruro de ácido del naproxeno y su estructura se confirmó por RMN. Además, con base en las señales de los espectros de ^1H y ^{13}C tanto del naproxeno ácido como el cloruro de ácido del naproxeno se confirmó que sólo se tiene el estereoisómero S.
- Se sintetizaron por primera vez los conjugados dendriméricos de primera y segunda generación entre los dendrones tipo PAMAM partiendo de la propargilamina con el naproxeno con dos y cuatro moléculas de naproxeno en su estructura observándose que los rendimientos fueron ligeramente menores en la segunda generación. La formación de los conjugados se confirmó por RMN de ^1H y ^{13}C en una y dos dimensiones, así como por espectrometría de masas.
- Se sintetizaron por primera vez los conjugados dendriméricos G1.0 y G2.0 tipo PAMAM de etanolamina con 3 y 5 moléculas de naproxeno; de igual manera se observó que el rendimiento disminuyó para la segunda generación. La formación de los conjugados se confirmó por RMN de ^1H y ^{13}C así como por espectrometría de masas. Además se observó que la reacción de amidación y de esterificación ocurren al mismo tiempo cuando se usa un cloruro de ácido con DMF y trietilamina como disolventes, obteniéndose los conjugados con tres y cinco moléculas de naproxeno en la periferia.

- Por RMN de ^1H y ^{13}C de los conjugados a partir de la etanolamina, se observó que al no ser una estructura simétrica las señales características del naproxeno aparecen por pares.
- Se hizo el estudio de actividad biológica para los conjugados dendriméricos observándose que los derivados de la propargilamina son activos contra leucemia, cáncer de color y cáncer de mama; mientras que los derivados de etanolamina son específicos contra leucemia.
- Además, se observó que a bajas concentraciones la actividad aumenta conforme aumenta la generación de los conjugados, pero a concentraciones mayores la actividad puede verse disminuida por generaciones mayores.



REFERENCIAS

1. Thompson, D., *On Growth and Form*, **1987**, London, Cambridge University Press.
2. Mizrahi A., Ben-Ner E., Katz M. J., Kede, K., Glusman J. G., Libersat F. *The Journal of Comparative Neurology*, **2000**, 422, 415.
3. Friedel C., Crafts J. M., *Bull. Soc. Chim. Fr.* **1885**, 43, 53.
4. Flory P. J., *J. Am. Chem. Soc.* **1952**, 74, 2718.
5. Zincke T., *Chem. Ber.* **1869**, 2, 737.
6. Ingold C. K., Nickolls L. C., *J. Chem. Soc.* **1922**, 121, 1638.
7. Feuerbacher N., Vogtle F., *Top. Curr. Chem.* **1998**, 197, 2.
8. Buhleier E., Wehner W., Vogtle F., *Synthesis* **1978**, 155.
9. Maciejewski M., *Macromol. Sci. Chem.*, **1982**, A17, 689.
10. De Gennes P. G., Hervet H. J., *J. Physique-Lett.*, **1983**, 44, 351.
11. Tomalia D. A., Baker H., Dewald J., Hall M., Kallos G., Martin S., Roeck J., Ryder J., Smith, P., *Macromolecules*, **1986**, 19, 2466.
12. Newkome G. R., Yao Z. -Q., Baker G. R., Gupta V. K., *J. Org. Chem.*, **1985**, 50, 2003.
13. Hawker C. J., Fréchet J. M. J., *J. Chem. Soc. Chem. Commun.*, **1990**, 1010.
14. Miller T. M., Neenan T. X., *Chem. Mat.*, **1990**, 2, 346.
15. Fréchet M. J., J., Tomalia A., D. (2001). *Dendrimers and Other Dendritic Polymers* (1st ed.). West Sussex, UK: John Wiley & Sons.
16. Kim Y. H., *J Am Chem Soc*, **1992**, 114, 4947.
17. Suzuki M., A., Saegusa T., *Macromolecules* **1992**, 25, 7071.
18. Reichert V., R., Mathias L. J., *Macromolecules*, **1994**, 27, 7024.
19. Wooley K. L., Hawker C. J., Lee R, Fréchet J. M. J., *Polym J.*, **1994**, 26, 187.
20. Kricheldorf H. R., Löhden G., *Macromol. Chem. Phys.*, **1995**, 196, 1839.
21. Urich K. E., Hawker C. J., Fréchet J. M. J., Turner S. R., *Macromolecules* **1992**, 25, 4583
22. Chu F., Hawker C. J., *Polym Bull*, **1993** 30, 265.
23. Jikei M., Hu Z., Kakimoto M., Imai Y., *Macromolecules*, **1996**, 29, 1062.
24. Percec V., Kawasumi M., *Macromolecules*, **1992**, 25, 3843.
25. Newkome G. R., Yao Z., Baker G. R., Gupta V. K., *J Org Chem*, **1985**, 50, 2003.
26. Hawker C. J., Fréchet J. M. J., *J. Am. Chem. Soc.*, **1990**, 112, 7638

27. Tomalia D. A., Baker H., Dewald J. R., Hall M., Kallos G., Martin S., Roeck J., Ryder J., Smith P., *Polym. J.*, **1985**, 17, 117.
28. Newcome G. R., Vogtle F., Moorefield C. N., *Dendrimers and Dendrons: Concepts, Synthesis, 2001, Applications*, Weinheim, Germany, Wiley-VCH.
29. Vogtle F., *Dendrimers II; Architecture, Nanostructure and Supramolecular Chemistry, 2000*, Springer.
30. Feuerbacher N., Vögtle F., *Top Curr. Chem.*, **1998**, 197, 1.
31. Boas U., Christensen J. B., Heegaard P. M. H., *Dendrimers in Medicine and Biotechnology; New Molecular Tools, 2006*, Cambridge UK, RSC Publishing.
32. Uwe-Martin W., Weil T., Müllen K., *Nanosized Polyphenylene Dendrimers, Topics in Current Chemistry, 2006, Vol. 212*, Berlin Heidelberg, Springer-Verlag.
33. Matos M. S., Hofkens J., Verheijen W., De Schryver F. C., Hecht S., Pollak K. W., Fréchet J. M. J., Forier B., Dehaen W. *Macromolecules* **2000**, 33, 2967.
34. Pettersson B, Sörensen K, *Hyperbranched polymers; unique design tools for multiproperty control in resins and coatings, the future of industrial coatings: technical innovation vis-à-vis legislation, 2005*, 15th International Conference, paper 21, pp 1.
35. Wooley K. L., Hawker C. J., Fréchet J. M. J., *J. Am. Chem. Soc.*, **1991**, 113, 4252.
36. Xu Z., Kahr M., Walker K. L., Wilkins C. L., Moore J. S., *J. Am. Chem. Soc.* **1994**, 116, 4537.
37. Kawaguchi T., Walker K. L., Wilkins C. L., Moore J. S., *J. Am. Chem. Soc.*, **1995**, 117, 2159.
38. Chang H. T., Chen C. T., Kondo T, Siuzdak G., Sharpless K. B., *Angew. Chem. Int.* **1996**, 35, 119.
39. Wooley K. L., Hawker C. J., Fréchet J. M. J., *Angew Chem. Int. Ed. Engl.* **1994**, 33, 82.
40. Bo Z., Zhang X., Zhang C., Wang Z., Yang M, Shen J., Ji Y., *J. Chem. Soc. Perkin Trans.*, **1994**, 1, 2931.
41. Spindler R., Fréchet J. M. J., *J. Chem. Soc. Perkin Trans.* **1993**, 1, 913.
42. Zeng F., Zimmerman S. C., *J. Am. Chem. Soc.*, **1996**, 118, 5326.
43. Aoi K., Itoh K., Okada M., *Macromolecules*, **1997**, 30, 8072.

44. Vögtle F., Plevoets M., Nachtsheim G., Wörsdörfer U., *J. Prakt. Chem.*, **1998**, 340, 112.
45. Siringhaus H.; Tessler N., R. Friend H., *Science*, **1998**, 280, 1741.
46. Organista M. U., Martínez K. M. E., Pedro H. L. D., Borja M. A., Cortez M. S., Hernández O. S., Martínez G. M., *Journal of Photochemistry and Photobiology A: Chemistry*, **2017**, 343, 58.
47. Wang X., Wang S., Ma Z., Ding J., Wang L., Jing X., Wang F., *Adv. Funct. Mater.* **2014**, 24, 3413.
48. Knapen, J. W. J., Van der Made, A.W., De Wilde, J. C., Van Leeuwen, P. W. M. N., Wijkens, P., Grove, D. M., Van Koten, G., *Nature*, **1994**, 372, 659.
49. Maciejewski M., *J. Macrom. Sci.-Chem.*, **1982**, 17A, 689.
50. Tomalia D. A., Naylor A., Goddard III W. A., *Angew. Chem., Int. Ed. Engl.*, **1990**, 29, 138.
51. Jansen J. F. G. A., De Brabander, Van den Berg E. M. M., Meijer E. W., *Science*, **1994**, 266, 1226.
52. García G. S., Franci G., Falanga A., Gómez R., Folliero V., Galdiero S., De la Mata F. J., Galdiero M., *Molecules* **2017**, 22, 1581.
53. Sadler K., Tam J. P., *J. Biotechnol.* **2002**, 90, 195.
54. Turnbull W. B., Stoddart J. F., *J. Biotechnol.* **2002**, 90, 231.
55. Li Y., Tseng Y. D., d'Espaux L., Bunch J. S., McEuen P. L., Luo D., *Nat. Mater.* **2004**, 3, 38.
56. Malik N., Evagorou E. G., Duncan R., *Anticancer Drugs* **1999**, 10, 767.
57. Jolanta F., Kukowska L., Candido K. A., Cao Z., Shraddha S., Majoros I. J., Thomas T. P., Balogh L. P., Kahn M. K., Baker J. R., *Cancer Res*, **2005**, 65, 5317.
58. Kolhe P., Misra E., Kannan R. M., Kannan S., Lieh-Lai M., *International Journal of Pharmaceutics*, **2003**, 259, 143.
59. Clive P. P., Michael J. C., Morley S., Walker M., Hoffman B., *Farmacología integrada*, **1998**, España, Elsevier.
60. Buer J. K., *Inflammopharmacology*, **2014**, vol. 22, España.
61. Cortez M. S., Cortés C. E., Hernández O. S., Ramírez A. T., Martínez G. M., *Biorganic and Med. Chem.*, **2012**, 20, 415.

62. Ramírez A. J. C., Martínez K. E., Pedro H. L. D., Organista M. U., Cortez M. S., Ramírez A. T., Nieto C. A., Calderón P. J., Martínez G. M., *Drug Development and Industrial Pharmacy*, **2018**, 44, 1342.
63. Pedro H. L. D., Martínez K. E., Martínez K. M., Cortez M. S., Medina V. A. C., Ramírez A. T., Hernández O. S., Martínez G. M., *Anti-Cancer Agents in Medicinal Chemistry*, **2017**, 18.
64. Padilla M. S., Martínez K. E., Ramírez A. T., Nieto C. A., Calderón P. J., Martínez G. M., *Biointerface Res. Appl. Chem.*, **2018**, 8, 3039.
65. Pedro H. L. D., Martínez K. E., Cortez M. S., Mendoza C. S., Ramírez A. T., Martínez G. M., *Nanomaterials*, **2017**, 7, 163.
66. Hardman J. G., Limbird L. E.; Goodman G. A., *Goodman & Gilman, las bases farmacológicas de la terapéutica.*, **1996**, 9na., México, D. F., McGraw-Hill Interamericana.
67. Castells M. S., Castells S., Hernández P. M., *Farmacología en enfermería*, 2007, España, Elsevier.
68. Chauhan P. M. S., Srivastava S. K., *Current Medicinal Chemistry*, **2001**, 8, 1532.
69. Kelloff G. J., Boone C. W., Crowell J. A., Steele V. E., Lubet R., Sigman C. C., *Cancer Epidemiol. Biomarkers Prev.*, **1994**, 3, 85.
70. Marnett L. J., Honn
71. K. V., *Cancer Metastasis Rev.*, **1994**, 13, 237.
72. Marnett L. J. *Cancer Res.*, **1992**, 52, 5575.
73. Hsu A.L., Ching T.T., Wang D.S., Song X., Rangnekar V.M., Chen, C.S. *J. Biol. Chem.*, **2000**, 275, 11397.
74. Shiff S.J., Koutsos M.I., Qiao L., Rigas B., *Exp. Cell Res.*, **1996**, 222, 179.
75. Henry D., Lim L.L., Garcia-Rodriguez L.A., Gutthann S.P., Carson J.L., Griffin M., Savage R., Logan R., Moride Y., Hawkey C., Hill S., Fries J.T., *Br. Med. J.*, **1996**, 312, 1563.
76. Kolhe P., E. Misra R.M. Kannan S. Kannan, Lieh-Lai M., *Int. J. Pharm.*, **2003**, 259, 143
77. Chauhan A.S., Jain N.K., Diwan P.V., A.J. Khopade. *J. Drug Targeting*, **2004**, 12, 575.

78. Uhrich K. S., Cannizzaro R. L., Shakesheff K., *Chem. Rev.* **1999**, 99, 3181.
79. Yinbo Z., Qi Z., Fengbo W., Jing L., Zhaoping P., Pengfei S., Lu Y., Ting X., Lulu C., Li G., *RSC Adv.*, **2016**, 6, 60327.
80. Kivılcım Ö., Ali S. E., Sarisözen C., Tulu M., Çalış S., *Journal of Microencapsulation*, **2014**, 31, 127.
81. Peter J. Harrington, and Eric Lodewijk. *Org. Process Res. Dev.*, **1997**, 1, 72.
82. <https://www.drugbank.ca/drugs/DB007>
83. Najlah M., Freeman S., Khoder M., Attwood D., D'Emanuele A., *Molecules*, **2017**, 22, 1661.
84. Da Silva S. S., Ferreira I E., Giarolla J., *Molecules*, **2016**, 21, 686.

