



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

PROGRAMA DE MAESTRÍA Y DOCTORADO EN CIENCIAS QUÍMICAS

Síntesis de derivados de β -ciclodextrina mediante química “click” y su potencial uso como acarreadores del albendazol.

TESIS

PARA OPTAR POR EL GRADO DE

MAESTRO EN CIENCIAS

PRESENTA

Q.F.B. LUIS JOSÉ LÓPEZ MÉNDEZ

TUTOR: DRA. PATRICIA GUADARRAMA ACOSTA
INSTITUTO DE INVESTIGACIÓN EN MATERIALES

Ciudad universitaria, CD. MX JUNIO 2016



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.



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

PROGRAMA DE MAESTRÍA Y DOCTORADO EN CIENCIAS QUÍMICAS

Síntesis de derivados de β -ciclodextrina mediante química “click” y su potencial uso como acarreadores del albendazol.

**T E S I S
PARA OPTAR POR EL GRADO DE**

MAESTRO EN CIENCIAS

P R E S E N T A

Q.F.B. LUIS JOSÉ LÓPEZ MÉNDEZ



Ciudad Universitaria. CD. MX. Junio 2016

Jurado Asignado

Presidente: Dr. Luis Demetrio Miranda Gutiérrez
Vocal: Dr. Jorge Tiburcio Báez
Vocal: Dr. Matthew Joseph Asay
Vocal: Dra. Martha Verónica Escárcega Bobadilla
Secretario: Dra. Yareli Rojas Aguirre

Sitio donde se desarrolló el tema:

Departamento de polímeros. Laboratorio E-105. Instituto de Investigación en Materiales UNAM

Asesor:

Dra. Patricia Guadarrama Acosta

Sustentante:

Q.F.B. Luis José López Méndez

Los resultados de este trabajo fueron presentados en el 4° simposio de estudiantes asociados al IIM, 2° Reunión anual del capítulo estudiantil IIM-SMM, con el trabajo intitulado: **Síntesis de derivados de β -ciclodextrina vía química “click” y su potencial uso como acarreadores de albendazol (antiparasitario)**. Celebrado en la ciudad de México en ciudad universitaria, del 6 al 8 de abril del 2016.

Este trabajo se desarrolló en el laboratorio E-105 del instituto de Investigación en Materiales (IIM) de la Universidad Nacional Autónoma de México U.N.A.M bajo la dirección de la Dra. Patricia Guadarrama Acosta, y con el apoyo económico del Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACyT) con número de proyecto: además de una beca otorgada de estudios de maestría (**336116**)

Agradecimientos

- A la Universidad Nacional Autónoma de México y al IIM por brindarme un lugar para continuar con mi formación académica
- A la Dra. Patricia Guadarrama Acosta: Por su apoyo, enseñanzas tiempo, dedicación y confianza colocadas en mí. por ser todo un ejemplo de liderazgo
- Al consejo Nacional de Ciencia y tecnología (CONACyT) por la beca otorgada. Numero de becario: 336116
- A todos los técnicos académicos por su valiosa ayuda, en especial a: Q. María de los Ángeles Peña Gonzáles (RMN) M. en C. Elizabeth huerta Salazar (RMN) Q. Eréndira García Ríos (Espectrometría de masas MALDI-TOF) I.Q. Luis Velasco Ibarra (Espectrometría de masas)
- A los sinodales: Dr. Luis Demetrio Miranda, Dr. Matthew Joseph Asay, Dr. Jorge Tiburcio Báez, Dra Martha Verónica Escárcega Bobadilla y Dra. Yareli Rojas Aguirre. Por su tiempo dedicado a la revisión de este trabajo y por sus valiosas aportaciones
- Al Dr. Fernando Belmont Bernal: Por compartir todos sus conocimientos conmigo y su apoyo incondicional y al M. en C. Israel Gonzales Méndez: Por su disposición en compartir sus conocimientos conmigo.
- A mis compañeros de laboratorio E-105 del IIM
- A mis padres José López Rodríguez y Adelina Méndez Valencia que les debo todos mis logros. A mis hermanas Azucena y Diana Por estar siempre presentes

Agradecimiento por colaboración especial

A la Dra. Yareli Rojas Aguirre del departamento de Farmacia (laboratorio 305) de la Facultad de Química (F.Q) de la Universidad Nacional Autónoma de México (UNAM).

Por su valiosa asesoría en la reacción de química “click” (cicloadición azida-alquino catalizada por cobre) utilizada en este trabajo, y que fue crucial para la síntesis de los derivados de β -ciclodextrina. También le agradecemos por proporcionarnos el derivado β -ciclodextrina-PEG el cual fue sintetizado en su laboratorio, por su grupo de trabajo, mediante una metodología de química “click”. Por ultimo también le agradecemos sus valiosas aportaciones y su apertura para colaborar con nuestro grupo de trabajo.

Dedicatoria

A Nelly Angélica Juárez Benítez

Porque más allá de la tristeza la felicidad lo fácil o lo difícil está el amor, no dejes de vivir con amor.

Contenido

Abreviaturas	1
1. Introducción	1
2. Antecedentes	2
2.1 Albendazol.....	2
2.1.1 Farmacocinética	2
2.1.2 Mecanismo de acción.....	3
2.2 Ciclodextrinas	4
2.2.1 Características físicas y químicas de las ciclodextrinas	5
2.2.2 Síntesis.....	7
2.2.3 Aplicaciones en el área farmacéutica.....	8
2.3 Dendrímeros.....	9
2.3.1 Síntesis.....	10
2.3.2 Síntesis divergente	11
2.3.3 Síntesis convergente	11
2.3.4 Aplicaciones como acarreadores de fármacos	12
2.3.5 Conjugados dendriméricos.....	12
2.3.6 Complejos dendriméricos	13
2.4 Química “click”	14
2.4.1 Mecanismo de reacción	15
2.4.2 Aplicaciones.....	16
Justificación	17
Hipótesis.....	17
3. Objetivos.....	18
3.1. Objetivo General	18
3.2. Objetivos específicos.....	18
4. Desarrollo experimental.....	19
4.1. Reactivos y disolventes	19

4.2. Estrategia de síntesis.....	20
4.3. Metodología de síntesis	22
4.3.1 DPTS (para-toluensulfonato de la 4-(dimetilamino)piridina) ⁵⁶	22
4.3.2 Bencil-2,2- <i>bis</i> (metilol)propionato (1) ⁵⁸	22
4.3.3 Ácido isopropilideno-2,2-bis(metoxi)propiónico (2) ⁵⁸	23
4.3.4 [G2]-CO ₂ CH ₂ C ₆ H ₅ (3) ⁵⁸	24
4.3.5 Dendrón de segunda generación con punto focal de ácido carboxílico: [G2]- COOH (4) ⁵⁸	25
4.3.6 Dendrón de segunda generación con punto focal alquino: [G2]- CO ₂ CH ₂ C ₂ H (5) ⁶⁰	26
4.3.7 Heptakis(6-deoxi-6-iodo)-β-ciclodextrina (6) ⁵⁹	27
4.3.8 Heptakis(6-deoxi-6-azido)-β-ciclodextrina (7) ⁵⁹	28
4.3.9 β-ciclodextrina-[G2]-protegido (8).....	29
4.3.10 β-ciclodextrina-[G2]-OH (9).....	30
4.4 Método general para la determinación de la solubilidad de los derivados de β-ciclodextrina	31
Determinación de la solubilidad de la β-ciclodextrina-PEG.....	31
Determinación de la solubilidad de la β-ciclodextrina-[G2]-OH	32
4.5 Método general para la formación de complejos de inclusión de derivados de β-ciclodextrina-albendazol	32
4.5.1 Complejo β-ciclodextrina-albendazol	32
4.5.2 Complejo β-ciclodextrina-PEG-albendazol.....	32
4.5.3 Complejo β-ciclodextrina-[G2]-OH-albendazol.....	33
4.6 Método general para la elaboración de mezclas físicas β-ciclodextrina-albendazol, y derivados de β-ciclodextrina-albendazol	33
4.6.1 Mezcla física β-ciclodextrina-albendazol	33
4.6.2 Mezcla físicaβ-ciclodextrina-PEG-albendazol	33
4.6.3 Mezcla física β-ciclodextrina-[G2]-OH-albendazol.....	33
5. Análisis de resultados.....	34
5.1 Estrategia sintética.....	34
5.1.1 Reacción “click”	43
5.2 Determinación de la solubilidad de los derivados de β-ciclodextrina.....	50

5.3 Formación de complejos de inclusión de derivados de β -ciclodextrina-albendazol	51
5.4 Mezclas físicas β -ciclodextrina-albendazol, y derivados de β -ciclodextrina-albendazol....	53
6. Conclusiones.....	57
7. Anexo.....	58
Referencias	83

Abreviaturas

α -CD	α -ciclodextrina	DSC	calorimetría diferencial de barrido
β -CD	β -ciclodextrina	FAB	bombardeo rápido de átomos
γ -CD	γ -ciclodextrina	FMO	flavin monooxigenasa
ABS	sulfóxido de albendazol	FT-IR	espectroscopia infrarrojo
ABSO	sulfona de albendazol	IE	impacto electrónico
AcOEt	acetato de etilo	MALDI-TOF	ionización desorción laser asistida por matriz- tiempo de vuelo
ADN	ácido desoxirribonucleico	mM	milimolar
BIS-MPA	ácido 2,2-bis(hidroximetil)propiónico	nm	nanómetros
°C	grados celsius	NOE	efecto nuclear Overhauser
CAACu	cicloadición azida-alquino catalizada por cobre	OMS	organización mundial de la salud
CD	ciclodextrina	PAMAM	poli(amidoamina)
CDCl ₃	cloroformo deuterado	PPI	poli(propilenimina)
CGT-asa	ciclodextrina glucosiltransferasa	p-TsOH	ácido para-toluensulfónico
CYP	citocromo P450	RMN	resonancia magnética nuclear
DCC	1,3-diciclohexilcarbodiimida	RMN ¹ H	resonancia magnética nuclear de hidrogeno
DMAP	4-dimetilaminopiridina	RMN ¹³ C{ ¹ H}	resonancia magnética nuclear de carbono
DMF	dimetilformamida	UV-vis	espectroscopia ultravioleta-visible
DMSO	dimetilsulfóxido		
DMSO-d ₆	dimetilsulfóxido deuterado		
DPTS	para-toluensulfonato de la 4-dimetilaminopiridina		

1. Introducción

Hoy en día, la eficiencia de las terapias para diversas enfermedades es más baja de lo que se desearía, ya que aproximadamente el 40% de los nuevos fármacos que se van desarrollando, así como varios fármacos ya existentes, presentan una baja solubilidad en agua, lo cual afecta factores como: formulación, farmacocinética y biodisponibilidad. Esto es un problema a resolver, ya que estos factores tienen un impacto directo en la efectividad terapéutica del fármaco. Particularmente, y de interés en este proyecto, el fármaco conocido como albendazol, utilizado para el tratamiento de la teniasis y cisticercosis causadas por el parásito *Taenia solium*, presenta una solubilidad marginal en medios acuosos. A pesar de que el albendazol tiene una buena actividad contra el parásito, su uso se limita a nivel intestinal, ya que, debido a su baja biodisponibilidad, en afecciones a nivel sistémico, éste presenta una baja efectividad.

El problema de la solubilidad de fármacos tradicionalmente se ha atacado mediante el uso de polímeros con cierto grado de hidrofiliidad como: polivinilpirrolidona, pectina, dodecilsulfato de sodio y polietilenglicol. Sin embargo, actualmente para enfrentar este problema, en el campo de la nanotecnología, se han desarrollado varios sistemas como: micelas, liposomas, nanopartículas y dendrímeros. Estos últimos son polímeros hiperramificados que se sintetizan por etapas, y destacan por ser sistemas estables, monodispersos que, dependiendo de su composición, pueden ser solubles en agua y biocompatibles. Otros sistemas que también se han utilizado en la mejora de la solubilidad de fármacos, son las ciclodextrinas, que son oligómeros cíclicos de glucosa, con un interior hidrofóbico y un exterior hidrofílico, lo que las hace idóneas para alojar fármacos poco solubles en su interior. En especial la β -ciclodextrina destaca por tener el tamaño y rigidez óptimos para el encapsulamiento de una amplia lista de fármacos, sin embargo, tiene una relativamente baja solubilidad en agua, por lo que la investigación en síntesis de nuevos derivados de β -ciclodextrina es un área muy activa.

Por lo mencionado anteriormente es que en el presente trabajo de investigación se sintetizaron derivados de β -ciclodextrina, con dendrones de poliéster de segunda generación, sintetizados a partir del ácido 2,2-bis(hidroximetil)propiónico (Bis-MPA) y se comparó su capacidad de encapsulamiento con la β -ciclodextrina y con un derivado de β -ciclodextrina con polietilenglicol 550. Las moléculas preparadas se proponen como novedosos acarreadores de fármacos hidrofóbicos como el albendazol, apostando a efectos colectivos entre la cavidad de la β -ciclodextrina y la acción envolvente de los sustituyentes sobre ésta, para promover un encapsulamiento más eficiente, mejorando al mismo tiempo la solubilidad en agua del propio acarreador, debido a la presencia de superficies más polares, afines a medios acuosos.

2. Antecedentes

2.1 Albendazol

El albendazol (N-[5-(Propiltio)-1H-benzimidazol-2-il]carbamato de metilo), con formula molecular (C₁₂H₁₅N₃O₂S), es un derivado de los benzimidazoles (Figura 1), tiene el aspecto de un polvo que va del blanco al amarillo claro, con punto de fusión de 208-210 °C, es soluble en medios orgánicos como: DMSO, cloroformo, metanol y acetonitrilo, también es soluble en soluciones acidas o básicas, pero es prácticamente insoluble en agua. Esta molécula es uno de los fármacos más utilizados para combatir la teniasis y cisticercosis provocada por *Taenia solium*.¹ Aunque se ha demostrado que puede ser efectivo en el tratamiento de la neurocisticercosis, debido a su baja biodisponibilidad, los tratamientos con este fármacos son complicados y largos.² Con el fin de alentar la investigación en este tema, esta parasitosis ha sido agregada por la OMS en 2010, a la lista de las principales enfermedades desatendidas, y se realizan estudios piloto para aumentar el control de la teniasis y la cisticercosis por *T. Solium*, con la proyección para 2020 de expandir estas acciones a algunos países endémicos.³

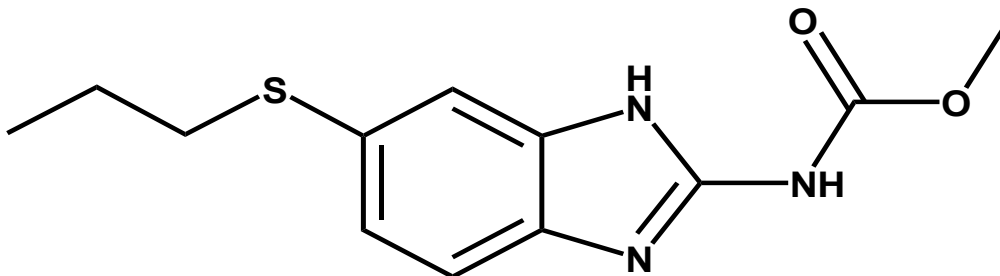


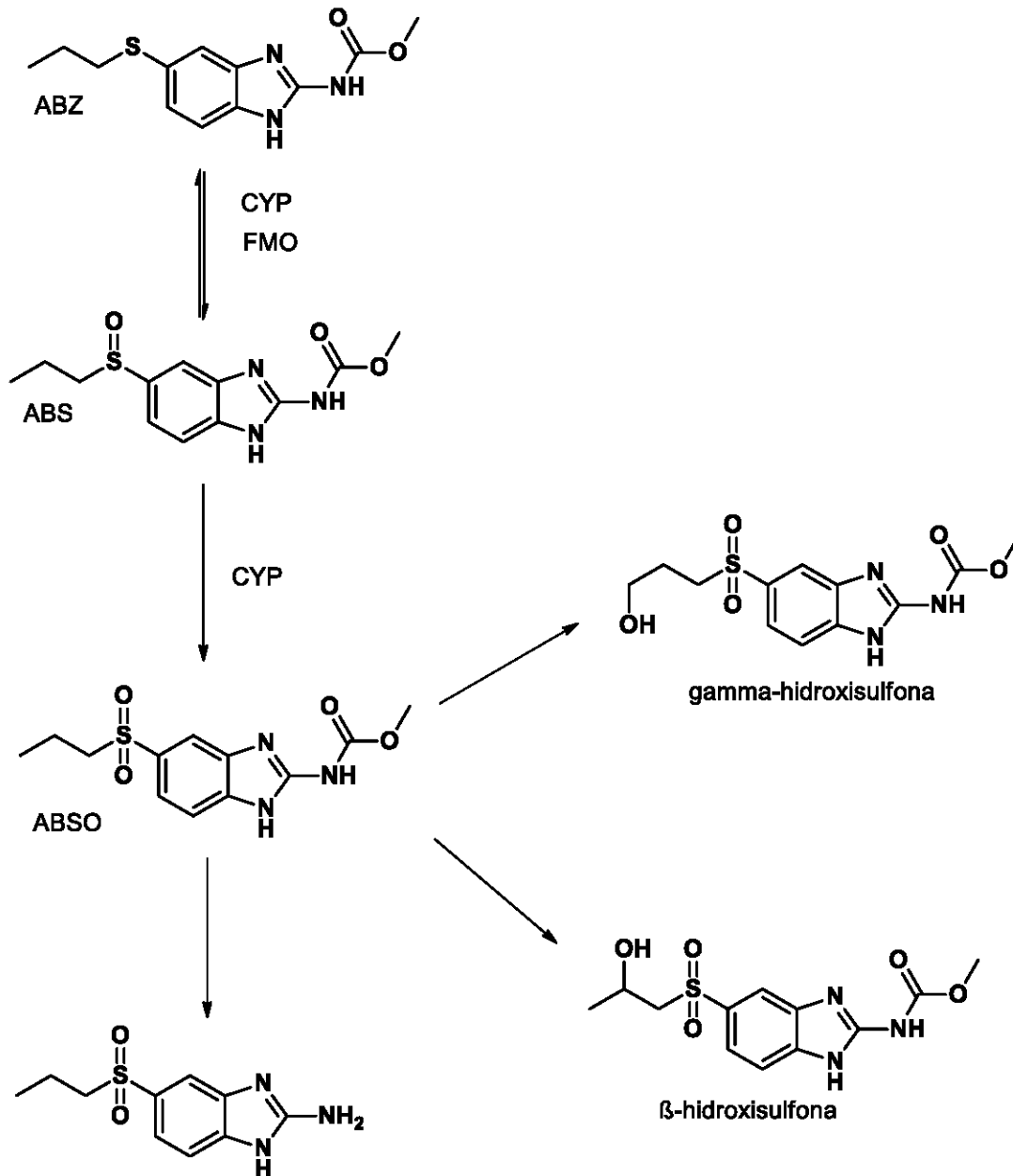
Figura 1. Estructura química del albendazol.

2.1.1 Farmacocinética

El albendazol se absorbe pobremente en el intestino delgado, mediante difusión pasiva (paso de una sustancia a través de la membrana biológica en función del gradiente de concentración); se cree que esto ocurre debido a su baja solubilidad en agua. En este sentido, estudios han comprobado que su biodisponibilidad aumenta cuando se suministra con una dieta rica en grasa.⁴

Una vez absorbido, el fármaco se une a proteínas plasmáticas para ser transportado al hígado, donde se metaboliza principalmente a sulfóxido de albendazol (ABS) y en menor proporción a otros metabolitos⁵ (Esquema 1). En los humanos se ha observado que la transformación a sulfóxido de albendazol, está mediada por dos sistemas, la flavinmonooxigenasa y el citocromo P450.⁶

Debido a su rápido metabolismo, el albendazol no se detecta en el plasma, por lo que se tiene que monitorear la concentración máxima de sulfóxido de albendazol, la cual se alcanza dentro de tres horas y tiene una vida media de entre 10 y 15 h.⁷ Su eliminación se lleva a cabo principalmente en orina y en menor cantidad en heces.⁸



Esquema 1. Vía metabólica del albendazol

2.1.2 Mecanismo de acción

A la fecha se ha encontrado que el albendazol y otros derivados de benzimidazol, actúan contra los parásitos mediante dos mecanismos diferentes:⁹ inhibición de la polimerización de la

tubulina e inhibición del metabolismo energético, los cuales se describen brevemente a continuación.

Inhibición de la polimerización de la tubulina

El albendazol presenta una elevada afinidad por la β -tubulina, inhibiendo su polimerización¹⁰, esto tiene como consecuencia una deficiencia en el transporte de sustancias dentro de la célula, además de la falta de formación de microtúbulos durante la mitosis.

Inhibición del metabolismo energético

El albendazol causa la muerte de los parásitos al interrumpir el metabolismo energético. Se ha demostrado que tiene afinidad por enzimas que participan en el ciclo de Krebs, como: fumarato reductasa, malato deshidrogenasa y succinato deshidrogenasa.¹¹

A pesar de que se han desarrollado diversas formulaciones para aumentar la biodisponibilidad del albendazol, aún se buscan estrategias para mejorar los resultados actuales. En este sentido las ciclodextrinas son excipientes ampliamente utilizados para este fin, por lo que se profundizará en ellas.

2.2 Ciclodextrinas

Las ciclodextrinas son oligosacáridos cíclicos constituidos de unidades de glucosa conectadas a través de enlaces α -1,4-glucosídicos, éstas se denominan α , β , o γ si tienen seis, siete u ocho unidades monoméricas respectivamente, y aunque se ha reportado la caracterización de la δ y ϵ ciclodextrinas, éstas no han demostrado tener una aplicación práctica.¹²

La historia de las ciclodextrinas comenzó en 1891, cuando Villiers reportó que a partir del almidón de la papa se obtenía una sustancia cristalina, cuya composición describió como: $(C_6H_{10}O_5)_2 + 3 H_2O$. Él propuso el nombre de celulosina, ya que presentaba características similares a la celulosa, como; resistencia a la hidrólisis ácida y ausencia de azúcares reductores.¹³ Sin embargo, el descubrimiento de Villiers no acaparó demasiada atención. Fue hasta 1904 que Schardinger, investigando microorganismos termoresistentes, responsables de la contaminación de los alimentos, se topó con la celulosina de Villiers, pero al estudiar sus propiedades de complejación con el yodo, él distinguió dos tipos de compuestos; denominó α -ciclodextrina (α -CD), al compuesto que formaba un complejo verdoso y β -ciclodextrina (β -CD), al compuesto que formaba un complejo café oscuro. Schardinger fue el primero en reportar una completa descripción de la preparación separación y purificación de estos dos compuestos.¹⁴ Por último, otro investigador que merece mención es Freudenberg, el cual propuso la estructura cíclica de las ciclodextrinas, y fue el primero en caracterizar la γ -ciclodextrina (γ -CD).¹⁵ A partir de entonces fueron diversos los grupos de trabajo que se interesaron por estos compuestos, por lo que hoy día las ciclodextrinas tienen aplicaciones en diversas áreas de la industria.¹⁶

2.2.1 Características físicas y químicas de las ciclodextrinas

Las ciclodextrinas tienen una arquitectura que asemeja a un cono truncado, algunas veces también llamado toroide. Las unidades de glucosa mantienen una conformación 4C_1 , lo que tiene como consecuencia que los hidroxilos secundarios queden en una cara del toroide, mientras que los primarios quedan en la otra, por esta razón se les denomina como cara secundaria y cara primaria respectivamente. Otra característica importante de la estructura cíclica es la rigidez, lo que provoca que el toroide tenga un radio y altura definidos,¹⁷ como se ilustra en la figura 2.

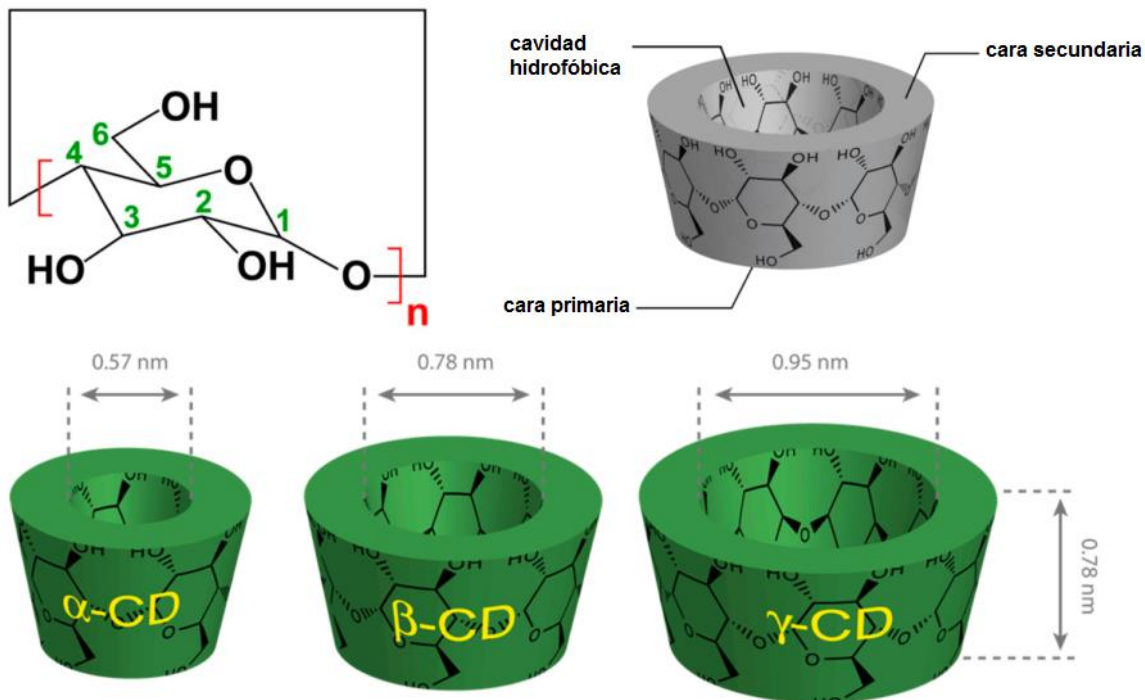


Figura 2. Estructuras de las principales ciclodextrinas¹⁸

Una de las características por las que las ciclodextrinas han llamado tanto la atención, es que cuentan con una cavidad interna, la cual tiene un carácter hidrofóbico, mientras que el exterior mantiene un carácter hidrofílico; Estas características hacen de las ciclodextrinas excelentes moléculas para la formación de complejos supramoleculares. Estos últimos son sistemas huésped-hospedero que se mantienen estables por interacciones no covalentes como: el efecto hidrofóbico.¹⁹ Este último es la principal fuerza motriz para la formación de complejos β -ciclodextrina-huésped lo que las hacen excelentes candidatos para el encapsulamiento de fármacos hidrofóbicos en medios acuosos.²⁰

Como se mencionó anteriormente, las ciclodextrinas son resistentes a hidrólisis ácida, sin embargo, son sensibles a oxidantes fuertes como el ion peryodato o el ion hipoclorito. Las ciclodextrinas son modificadas principalmente por los grupos hidroxilo presentes en C-6, C-3 y C-2, de acuerdo al siguiente orden de reactividad: C-6 > C-2 > C-3. No obstante, la sustitución depende fuertemente de las condiciones de reacción, por ejemplo, en la síntesis de la dehidropropil-ciclodextrina, en donde a pH ligeramente básico, el óxido de propileno reacciona principalmente con los hidroxilos en C-2 y C-3, pero en condiciones muy alcalinas la reacción ocurre principalmente en el hidroxilo en C-6.²¹ En la Tabla 1 se hace un resumen de las principales características de las ciclodextrinas.

Tabla 1. Principales características de las ciclodextrinas.

	α	β	γ
No. de unidades de glucosa	6	7	8
Peso molecular	972	1135	1297
Solubilidad en agua (g 100 mL⁻¹)	14.5	1.85	23.2
[α]_D 25°C	150±0.5	162.5±0.5	177.4±0.5
Diámetro de la cavidad Å	4.7-5.3	6.0-6.5	7.5-8.3
Volumen aproximado de la cavidad Å³	174	262	427
Forma cristalina	Placas hexagonales	Paralelogramo monoclinico	Prismas cuadráticos

Actualmente, es reconocido que la β -CD, es la que reúne las mejores características de tamaño, biocompatibilidad, y accesibilidad para el encapsulamiento de sustancias con actividad farmacológica.²² El único inconveniente que presenta la β -CD es su relativamente baja solubilidad en agua, este hecho se explica por la formación de enlaces de hidrogeno entre el C-2-OH de una unidad de glucosa con el C-3-OH de otra unidad adyacente, y aunque esto le da rigidez a la estructura, deja inaccesible la interacción de estos hidroxilos con las moléculas de agua. En la Figura 3 se muestra la representación en la que se puede observar que en la cavidad hidrofóbica se encuentran los hidrógenos que están unidos a C-3 y a C-5 de las unidades de glucosa y los oxígenos tipo éter de los enlaces glucosídicos. Este hecho es de particular interés cuando se analiza la formación de un complejo de inclusión por RMN, ya que se pueden monitorear las interacciones del huésped con los hidrógenos internos de la ciclodextrina por efecto NOE (Nuclear Overhauser Effect).²³

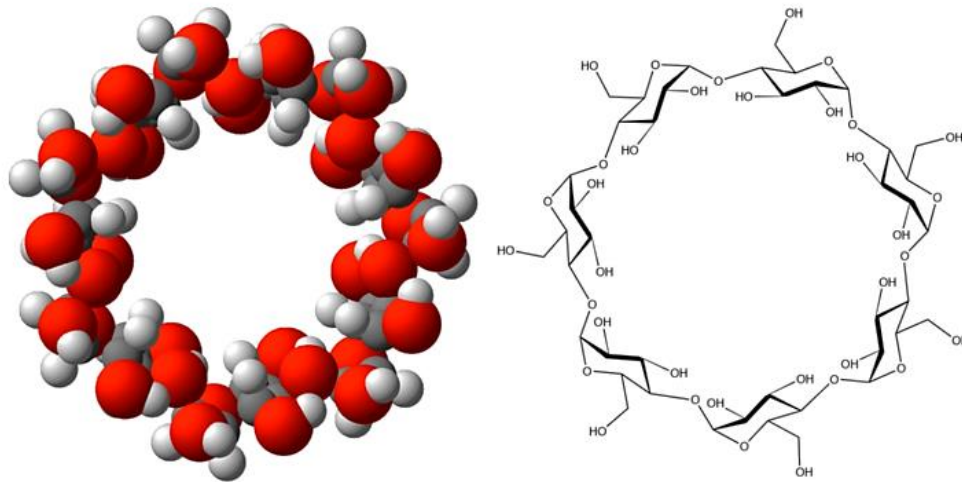
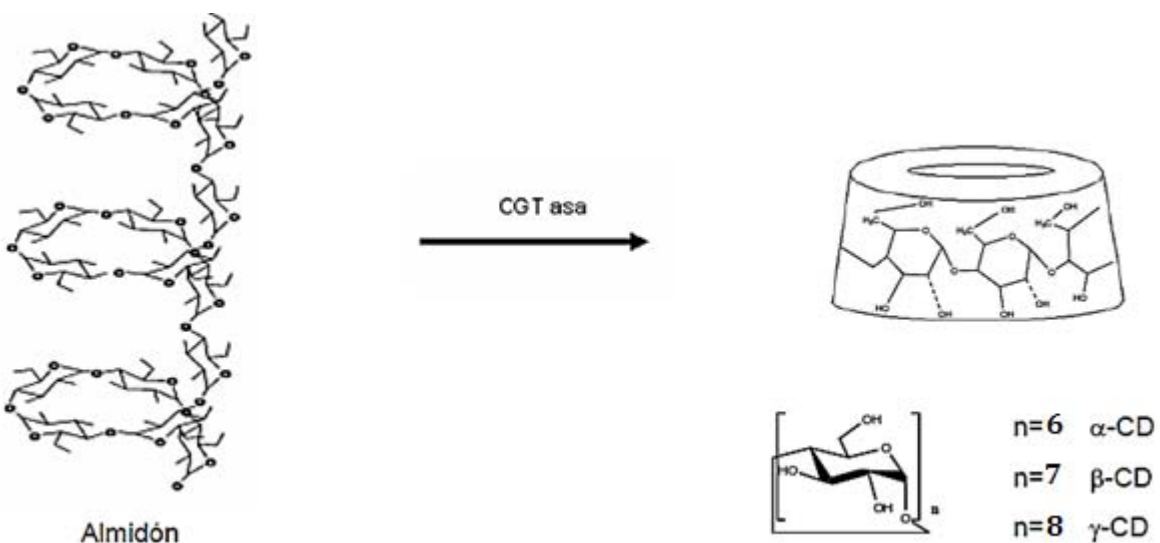


Figura 3. Modelos estructurales de la β -ciclodextrina¹⁸

2.2.2 Síntesis

Las ciclodextrinas son obtenidas mediante la descomposición enzimática del almidón (Esquema 2); la enzima que cataliza esta reacción es la ciclodextrina glucosiltransferasa (CGT-asa) y es producida por un gran número de microorganismos como: *Bacillus macerans*, *Klebsiella oxytoca*, *Bacillus circulans*, y *Alkalophylic bacillus*, aunque en condiciones normales se producen la α , β y γ -ciclodextrina, en cantidades aproximadamente equimolares. Actualmente, hay métodos que dirigen la producción mayormente a un derivado en específico, por ejemplo si se agrega tolueno al sistema, se induce la formación del complejo β -CD/tolueno, el cual puede ser separado para desplazar el equilibrio hacia la formación de la β -CD.¹²



Esquema 2. Reacción de formación de ciclodextrinas a partir de almidón catalizada por CGT-asa

2.2.3 Aplicaciones en el área farmacéutica

Las ciclodextrinas han sido aplicadas en la industria cosmética, de alimentos, así como en catálisis y en cromatografía.²⁴ En especial en la industria farmacéutica, son aplicadas en formulaciones para incrementar la solubilidad, estabilidad y biodisponibilidad de fármacos poco solubles. Sin embargo, como ya se mencionó antes, la β -CD no tiene la solubilidad deseada para desarrollar formulaciones farmacéuticas altamente eficientes, por lo que varios tipos de derivados han sido desarrollados, entre los más populares se encuentran: la hidroxipropil- β -CD (HP- β -CD) y la metil- β -CD (M- β -CD). Estas dos últimas han sido utilizadas en formulaciones para mejorar la solubilidad del albendazol. Estos estudios demuestran que la HP- β -CD es la mejor candidata para el encapsulamiento del albendazol.^{25,26}

Actualmente existen diversas formulaciones comerciales que ya contienen ciclodextrinas, sin embargo, aún se continúa con la búsqueda de un acarreador “ideal”. Las características ideales de un acarreador son:

- Alta solubilidad en agua a temperatura ambiente
- Disponible en alta pureza
- No tóxico en altas dosis para el caso de tratamientos crónicos
- Afinidad por una gran variedad de fármacos
- Estable en condiciones de almacenamiento
- Biocompatible y biodegradable

Hoy en día la búsqueda de nuevos derivados sigue siendo un área muy activa, en particular unos sistemas que comienzan a despertar interés son las CDs dendríméricas; sistemas en los que se combinan las propiedades de las ciclodextrinas y los dendrímeros. Actualmente, se distinguen tres tipos de CD dendríméricas (Figura 4):²⁷

- Dendrímérico basado en ciclodextrina: En éstos, la CD está en más de una parte del dendrímérico; en núcleo, los brazos dendríticos y/o en la periferia.
- Dendrímérico con núcleo de ciclodextrina: En éstos, los dendrones son acoplados a todos los sitios de unión de la cara primaria de la CD.
- Conjugado dendrímérico-ciclodextrina: Estos son sistemas en los que la sustitución de la ciclodextrina o el dendrímérico es parcial.

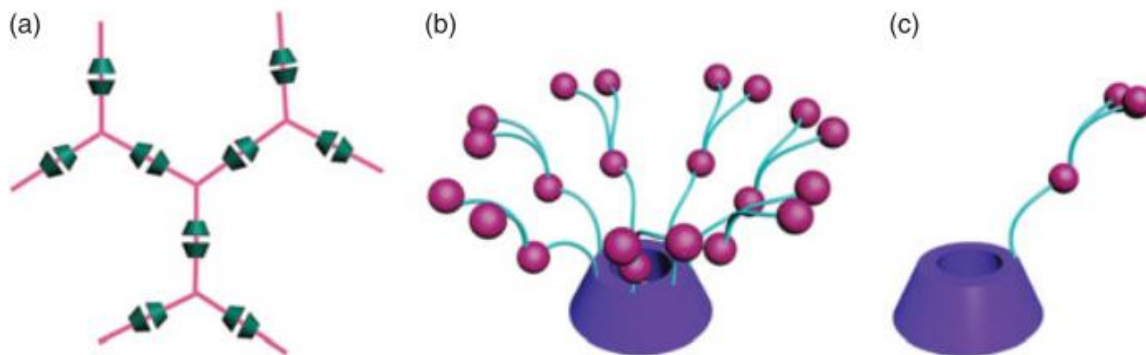


Figura 4. Tipos de CD-dendrímicas. a) dendrímico basado en ciclodextrina. b) dendrímico con núcleo de ciclodextrina. c) conjugado dendrímico-ciclodextrina²⁷

Aunque estos sistemas son muy llamativos para el acarreamiento de fármacos, la investigación en torno a ellos está dirigida principalmente al acarreamiento de ADN.²⁸

2.3 Dendrimeros

Hace ya tres décadas que se reportó la síntesis de una clase de polímeros no convencionales, los cuales se caracterizan por ser hiperramificados, monodispersos, con una estructura tridimensional bien definida y por ser sintetizados por pasos, mediante una secuencia iterativa de reacciones. Estas nuevas moléculas fueron denominadas dendrimeros, y en ellos se distinguen tres componentes arquitectónicos: un núcleo, capas internas con puntos de ramificación (generaciones) y una superficie con múltiples grupos funcionales (Figura 5).²⁹

Debido a estas características, los dendrimeros tienen propiedades químicas y físicas que los hacen diferentes de sus análogos lineales,³⁰ por lo que la investigación en torno a ellos abarca múltiples aplicaciones, como optoelectrónica, sensores moleculares, acarreamiento de fármacos, transfección de genes, cosmética, cáncer y vacunas.³¹

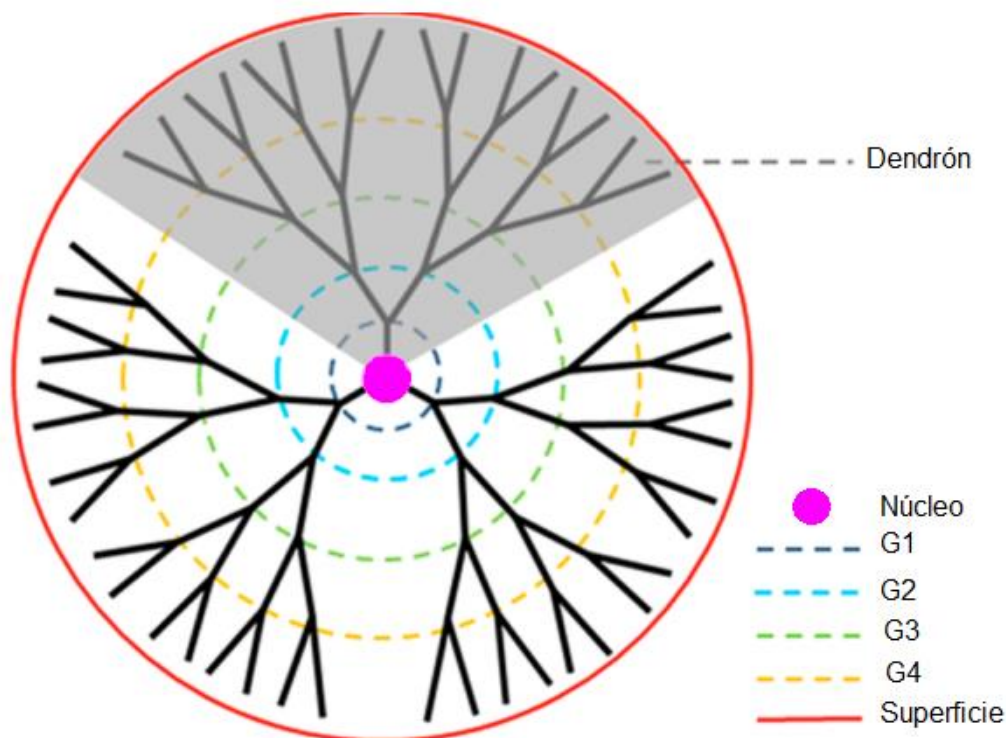


Figura 5. Representación esquemática de la estructura de un dendrímico. (G= Puntos de ramificación de las diferentes generaciones del dendrímico)³²

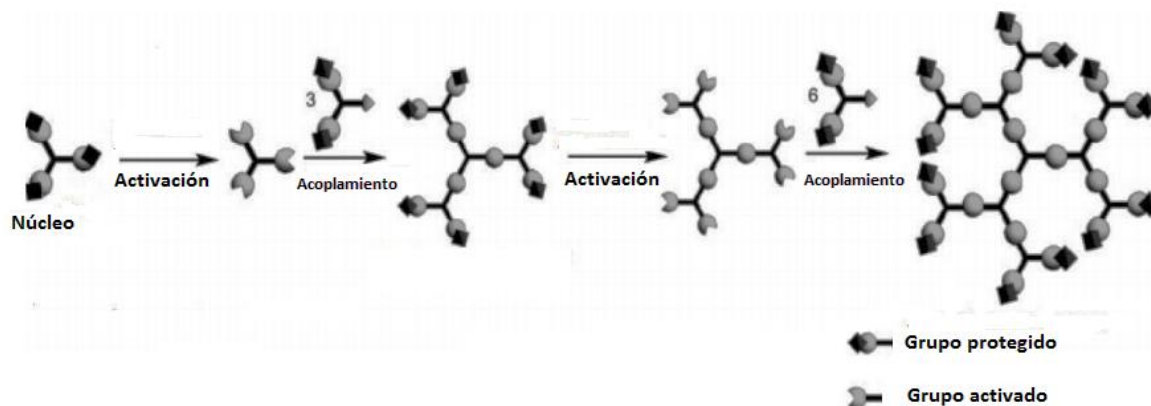
El primer reporte de la síntesis por etapas de una molécula ramificada fue hecho por Vögtle³³ en 1978, él a partir de aminas llevó a cabo la síntesis de moléculas tipo cascada. Posteriormente, Newkome³⁴ reportó en 1985 la síntesis de macromoléculas ramificadas que denominó arbores, estos eran una nueva aproximación a las micelas, y se esperaba tuvieran la capacidad de formar complejos de inclusión. En ese mismo año de manera independiente, el grupo de Tomalia³⁵ que trabajaba en la Dow Chemical Company, reportó la síntesis de la primera familia de dendrímeros de poliamidoaminas (PAMAM), siendo este grupo de trabajo el que acuñó la palabra dendrímico, que deriva del griego *dendrón* que significa árbol. A partir de entonces, el número de publicaciones dedicado a este tipo de moléculas creció exponencialmente, esto dio lugar al diseño de diferentes metodologías de síntesis, las cuales se describen a continuación.

2.3.1 Síntesis

Las metodologías más populares para la síntesis de dendrímeros son los métodos divergente y convergente, pero también, con el afán de lograr un mayor crecimiento en el menor número de pasos, se ha reportado la síntesis en doble etapa y la síntesis doblemente exponencial.³⁰

2.3.2 Síntesis divergente

Esta metodología fue la que utilizó Tomalia para la síntesis de los dendrímeros PAMAM. En esta síntesis, el crecimiento del dendrímero se hace desde el centro hacia la periferia. Como primer paso los monómeros, los cuales constan de un sitio reactivo y dos o más protegidos, son acoplados al núcleo; el siguiente paso es la activación de los sitios no reactivos (vía desprotecciones), para posteriormente acoplar otro monómero y así, con pasos sucesivos de activación y acoplamiento, se logra el crecimiento del dendrímero (Esquema 3).³⁶

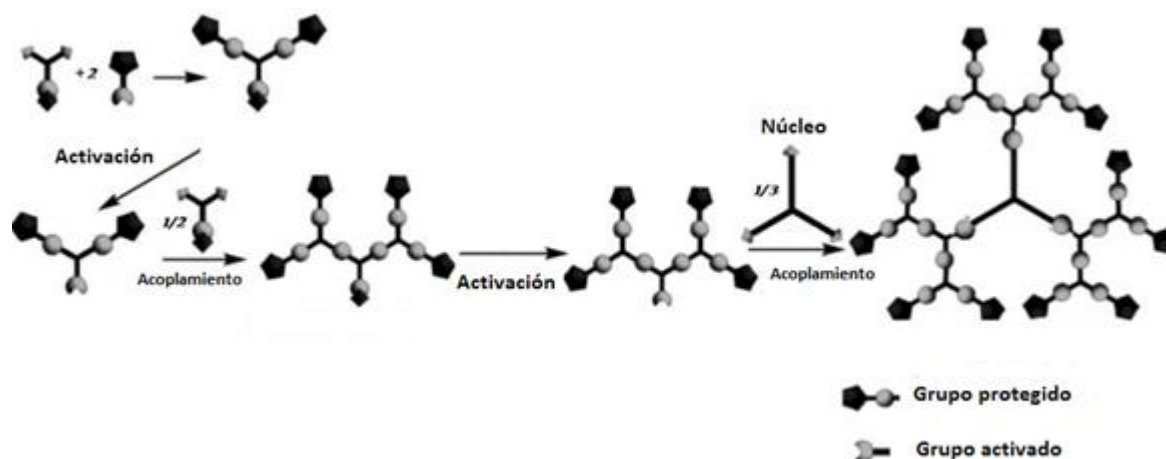


Esquema 3. Síntesis divergente de dendrímeros³⁶

Aunque esta metodología es utilizada para producir comercialmente dendrímeros PAMAM, en ella se pueden presentar varias desventajas; por ejemplo, las reacciones incompletas, lo cual puede solucionarse a costa de utilizar un exceso de reactivo y tiempos prolongados de reacción. Otra desventaja que se presenta principalmente en dendrímeros muy grandes, son las reacciones intramoleculares entre las ramificaciones demasiado cercanas, generándose así lo que se conoce como defectos estructurales, lo cual afecta principalmente a la monodispersidad del compuesto.

2.3.3 Síntesis convergente

Este método fue propuesto por Fréchet en 1990³⁷ para la síntesis de dendrímeros de poli(benciléter), utilizando como monómero el 3,5-dihidroxibencil alcohol. En esta metodología, la síntesis del dendrímero se realiza desde la periferia al núcleo; como primer paso, el monómero que consta de un sitio inactivo denominado punto focal y dos o más sitios activos, se acopla a dos o más grupos de superficie, con lo que se obtiene el dendrón de primera generación con un punto focal inactivo, posteriormente se puede activar el punto focal para acoplarlo nuevamente al monómero. Estos pasos se repiten hasta obtener los dendrones del tamaño deseado, los cuales finalmente son activados en el punto focal para ser acoplados al núcleo (Esquema 4).

Esquema 4. Síntesis convergente de dendrímeros³⁶

En este método el número de sitios reactivos permanece constante, lo cual disminuye la posibilidad de tener reacciones incompletas, siendo esta una ventaja frente al método divergente en el cual el número de sitios reactivos incrementaba exponencialmente. Sin embargo, este método está limitado a la síntesis de dendrones de generaciones no muy grandes debido al impedimento estérico que se puede presentar al acoplar al núcleo.

2.3.4 Aplicaciones como acarreadores de fármacos

Dependiendo de los grupos que se encuentren en el núcleo, los brazos dendríticos o la periferia del dendrímero, éstos pueden reunir un grupo de características necesarias para ser utilizados como acarreadores de fármacos, como son: solubilidad en medios acuosos, biocompatibilidad, baja citotoxicidad, biopermeabilidad, y no ser inmunogénicos.³⁸ El acarreamiento puede ser por formación de conjugados, donde se forma un enlace covalente, o por complejos de inclusión, en donde el fármaco es encapsulado por el dendrímero y se mantienen unidos por interacciones no covalentes.³²

2.3.5 Conjugados dendriméricos

En esta estrategia se aprovecha la diversidad de grupos de superficie que pueden presentar los dendrímeros, para unir los fármacos vía un enlace covalente (Figura 6b). La elección del grupo funcional para formar el enlace no es trivial, ya que de éste depende la velocidad de liberación de la molécula de interés.³⁹ Principalmente se usan grupos lábiles a pH ácido como el grupo éster o *cis*-aconityl, este último ha sido utilizado para formar conjugados, dendrímero-doxorrubicina,⁴⁰ los cuales tienen una liberación exitosa en los lisosomas de células cancerígenas.

Otros estudios comparan la diferencia entre el enlace éster y amida en los mismos sistemas. Se observa que sistemas metotrexato-PAMAM G5 con enlace éster es cuatro veces más activo que el metotrexato solo, mientras que el sistema metotrexato-PAMAM G5 con enlace amida es

menos activo.⁴¹ Aunque la capacidad de carga de fármaco depende del número de grupos superficiales, se debe tener en cuenta que la saturación de éstos puede tener un impacto negativo en la solubilidad de los sistemas.

2.3.6 Complejos dendriméricos

Esta estrategia aprovecha las cavidades internas que tienen los dendrímeros (Figura 6a). Estas cavidades son particularmente adecuadas para el encapsulamiento de fármacos poco solubles.³²

La fuerza motriz del encapsulamiento en medios acuosos la da principalmente el efecto hidrofóbico, aunque estructuras dendriméricas como PAMAM y PPI además cuentan con pares de electrones libres, los cuales pueden tomar el papel de aceptores de puentes de hidrogeno, lo que le da una mayor estabilidad a los encapsulados.³⁸

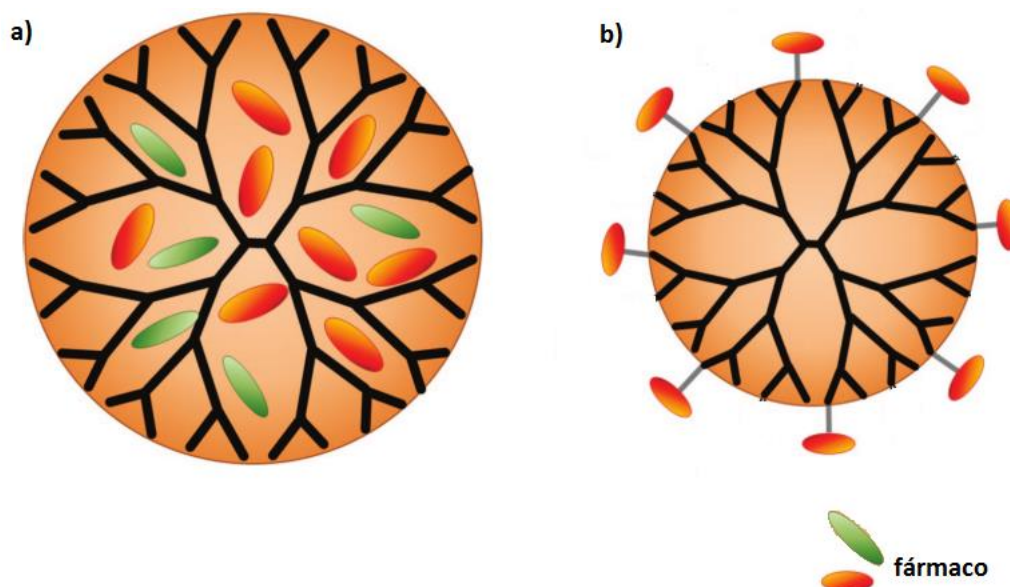


Figura 6. Formas de acarreamiento de fármacos por dendrímeros. a) complejos dendriméricos.
b) conjugados dendriméricos³⁸

Otro de los factores determinantes para el éxito de esta estrategia es el tamaño del sistema; dendrímeros de 1° a 3° generación son poco eficaces ya que, para muchos fármacos, el encapsulamiento no es completo y el complejo es poco estable; por otro lado, dendrímeros mayores a la 6° generación comienzan a presentar una superficie muy empacada, lo que dificulta la entrada de moléculas al interior del dendrímero.⁴²

Como se ha mencionado, las CD dendriméricas pueden tener un gran potencial para el acarreamiento de fármacos, sin embargo, para su síntesis son necesarias reacciones que tengan

una alta eficiencia, este requisito es cumplido por reacciones que entran en un concepto bastante reciente en la química orgánica, la química “click”.

2.4 Química “click”

En el año 2001 Sharples y colaboradores, inspirados en las reacciones bioquímicas, introdujeron un nuevo concepto que denominaron química “click”, para describir un nuevo enfoque de síntesis. Esta consiste en construir una gran diversidad de moléculas complejas utilizando unidades pequeñas, y con una variedad reducida de reacciones, que sean altamente eficientes y que generen conexiones carbono-heteroátomo (C-X), en lugar de conexiones carbono-carbono (C-C).⁴³ Los criterios para que una reacción esté considerada en este contexto son los siguientes:

- Es fácil de llevar a cabo desde el punto de vista experimental, es decir con reactivos fácilmente disponibles.
- Es tolerante a una amplia variedad de grupos funcionales y condiciones de reacción en varios tipos de interfaces como: sólido/líquido, líquido/líquido e incluso sólido/sólido.
- Es altamente selectiva y regioespecífica.
- Da lugar a la formación del producto de manera cuantitativa.
- La etapa de aislamiento del producto final es sencilla, sin necesidad de una purificación cromatográfica.

Las reacciones que mayormente llegan a cumplir estos criterios encajan dentro de cuatro categorías principales:⁴⁴

- Las reacciones de sustitución nucleofílica donde se ve implicada la apertura de un anillo tensionado, como son: los epóxidos, las aziridinas, iones aziridinio e iones episulfonio.
- Reacciones del grupo carbonilo del tipo no aldólica, como la formación de éteres de oximahidrazonas y heterociclos aromáticos.
- Reacciones de adición a enlaces múltiples carbono-carbono, en especial los casos oxidativos como: epoxidación, dihidroxilación, aziridación y también algunas reacciones del tipo Michael.
- Reacciones de cicloadición como las 1,3-dipolares o bien las [4+2] del tipo hetero Diels-Alder.

En esta última categoría, se encuentra una de las reacciones más representativas del concepto de la química “click”; la cicloadición 1,3-dipolar azida-alquino, que fue primeramente reportada por Huisgen⁴⁵ en el año 1967 y posteriormente, en el 2002 Medal y col.⁴⁶ reportaron una modificación catalizada por Cu(I). En ese mismo año, poco después y de manera independiente, Sharples⁴⁷ publicó una variante utilizando sulfato de cobre y ascorbato de sodio como fuente de Cu(I); esta última publicación ocasionó que la reacción se asociara íntimamente con el concepto “química click”, por lo que incluso se han llegado a usar como sinónimos. Esta variación

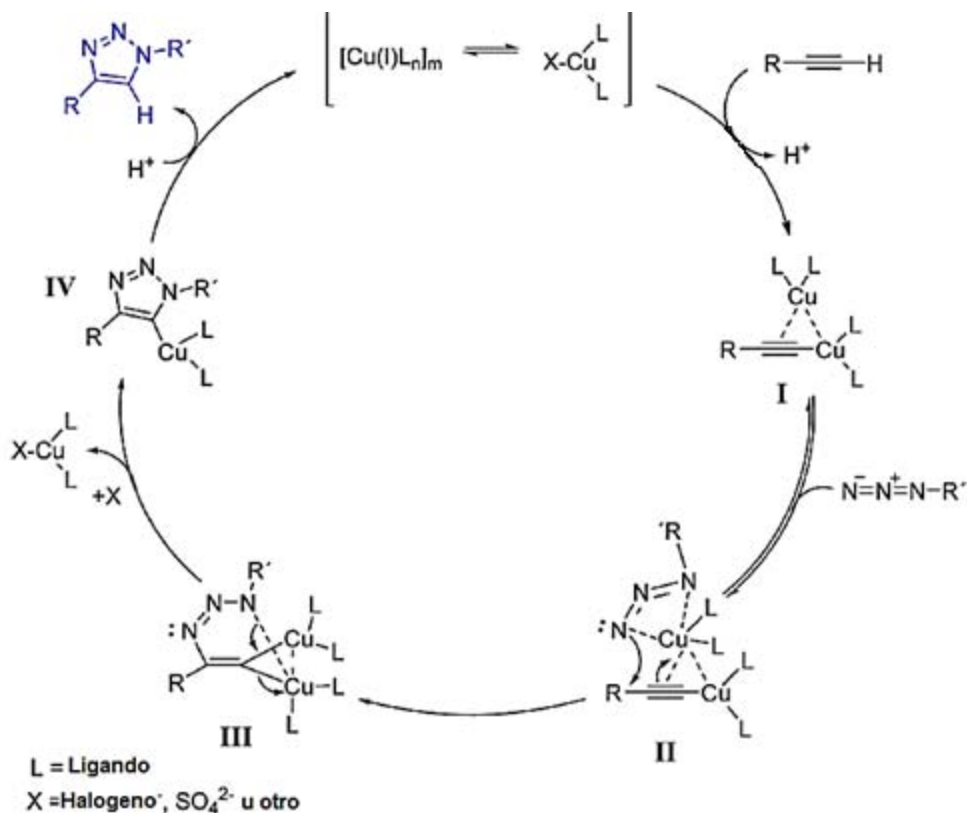
catalizada por Cu(I) comúnmente es referida como: cicloadición azida-alquino catalizada por Cu (CAACu). El papel del Cu(I) en la catálisis ha sido investigado ampliamente y en la siguiente sección se describirán los aspectos principales en el mecanismo.

2.4.1 Mecanismo de reacción

Si bien la reacción propuesta por Huisgen puede ser explicada mediante un mecanismo concertado, no se puede proponer lo mismo para la versión catalizada por Cu(I) ya que la cicloadición directa de un complejo cobre-acetileno a una azida requeriría una energía de activación mayor a la del proceso no catalizado,⁴⁸ sin embargo, un proceso por etapas bajaría la barrera energética lo suficiente para justificar el incremento en la velocidad de reacción. El ciclo catalítico que se propone es el siguiente:

Como etapa inicial, se propone la coordinación del Cu(I) con el alquino; según cálculos teóricos, la formación de este intermediario disminuye considerablemente el pKa del alquino, permitiendo la desprotonación del acetileno en medios acuosos sin necesidad de agregar una base, para formar el intermediario **I** (Esquema 5) dando lugar a la formación de un acetiluro de cobre, el cual incluso ha logrado identificarse a pH ácido en disoluciones acuosas.⁴⁹

Posteriormente, la coordinación de la azida forma al intermediario **II**, el cual es un complejo acetiluro-cobre-azida. Esta complejación promueve el ataque nucleofílico del nitrógeno terminal de la azida al carbono sustituido del acetiluro, formando al intermediario **III**. Lo que sigue es una contracción de anillo, generando al intermediario **IV**, el cual mediante un proceso ácido-base libera el producto y se regenera el catalizador para comenzar de nuevo el ciclo.



Esquema 5. Mecanismo de reacción para la cicloadición azida-alquino catalizada por Cu (CAACu)³⁶

2.4.2 Aplicaciones

La versatilidad de la CAACu no solo ha llamado la atención en el área de síntesis de nuevos fármacos, también se ha demostrado su utilidad en la síntesis de sistemas macromoleculares ya que facilita la síntesis de arquitecturas que eran muy difíciles e incluso imposibles de obtener antes. El uso de esta reacción tiene gran relevancia en las técnicas de polimerización,⁵⁰ así como en las modificaciones post polimerización;⁵¹ también ha demostrado ser una reacción eficaz para la modificación de biomoléculas como ADN y péptidos.⁵²

En el campo de los dendrímeros, la química “click” ofrece posibilidades de explorar estructuras con nuevos niveles de complejidad, en especial para acoplar dendrímeros con biomoléculas, como: oligosacáridos, péptidos, ADN o anticuerpos.⁵³ Por otro lado, debido a la relativa facilidad de obtener los derivados azido-CD, en la química de ciclodextrinas, la reacción CAACu ha tenido un gran impacto, hasta el momento la reacción ha sido utilizada para sintetizar dímeros de CD e incluso cúmulos de varias unidades de CD, con potenciales aplicaciones en catálisis⁵⁴ y acarreamiento de fármacos.⁵⁵

Justificación

Como se mencionó anteriormente la baja solubilidad de fármacos en medios acuosos disminuye la biodisponibilidad de estos, como caso particular, en este trabajo de investigación, se utiliza como modelo al albendazol, un antiparasitario que por su baja solubilidad es poco efectivo en padecimientos como la neurocisticercosis.

Es por ello que surge la necesidad de diseñar nuevos sistemas acarreadores de fármacos, cuya síntesis sea eficiente, en este sentido actualmente el concepto de química “click” agrupa reacciones que han mostrado ser útiles para la síntesis de sistemas macromoleculares como son los dendrímeros y las ciclodextrinas, moléculas que han demostrado ser útiles en el acarreamiento de fármacos poco solubles.

Por lo mencionado anteriormente en el presente trabajo de investigación se pretende sintetizar mediante química “click”, un derivado de β -ciclodextrina con dendrones de segunda generación basados en el ácido 2,2-bis(hidroximetil)propiónico, denominado: β -ciclodextrina-[G2]-OH. A la vez que se pretende comparar su solubilidad y eficiencia de encapsulamiento, contra un derivado con un sustituyente de arquitectura lineal (PEG-550). Este derivado (β -ciclodextrina-PEG) fue proporcionado por la Dra. Yareli Rojas Aguirre de la Facultad de Química de la UNAM

Hipótesis

Dado que hay una mayor cantidad de grupos hidroxilo presentes en la arquitectura ramificada del derivado (β -ciclodextrina-[G2]-OH) este deberá tener una mayor solubilidad en agua, esto sumado a la cavidad hidrofóbica del anillo de β -ciclodextrina, podría permitir una mayor capacidad de encapsulamiento, en comparación al derivado de arquitectura lineal β -ciclodextrina-PEG, el cual se espera sea menos soluble.

3. Objetivos

3.1. Objetivo General

- ❖ Síntesis, mediante química “click,” de derivados dendriméricos de β -ciclodextrina solubles en agua, capaces de acarrear fármacos hidrofóbicos como el albendazol (antiparasitario).

3.2. Objetivos específicos

- Síntesis de un dendrón de poli(éster) de segunda generación basado en Bis-MPA con un alquino como punto focal.
- Síntesis de heptakis(6-deoxi-6-azido)- β -ciclodextrina a partir de la β -ciclodextrina.
- Síntesis de los derivados de β -ciclodextrina-[G2]-OH mediante la cicloadición azida-alquino catalizada por cobre (reacción “click”).
- Caracterización de cada uno de los productos obtenidos mediante RMN ^1H y $^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$, FT-IR y espectrometría de masas (impacto electrónico y MALDI-TOF).
- Evaluación de la solubilidad en agua de la β -ciclodextrina-[G2]-OH y de un derivado β -ciclodextrina-PEG¹ mediante espectroscopia UV-vis.
- Formación de complejos de inclusión de la β -ciclodextrina-PEG-albendazol y β -ciclodextrina-[G2]-OH-albendazol, así como de β -ciclodextrina-albendazol (con fines comparativos) haciendo uso del fenómeno de cosolvencia como método para mejorar la solubilidad.
- Elaboración de mezclas físicas para corroborar la formación de encapsulados entre la β -ciclodextrina-PEG-albendazol y β -ciclodextrina-[G2]-OH-albendazol, así como de β -ciclodextrina-albendazol

¹ Este derivado fue sintetizado en el laboratorio 305 de la Facultad de Química por el M. en C. Israel Gonzales Méndez bajo la asesoría de la Dra. Yareli Rojas Aguirre.

4. Desarrollo experimental

4.1. Reactivos y disolventes

- **Reactivos**

Ácido 2,2-bis(hidroximetil)propiónico 98% (bis-MPA, 98% w/w), ácido p-toluensulfónico mono hidratado (98.5% w/w), albendazol, alcohol propargílico (99%) azida de sodio (98% w/w), bromuro de bencilo (98% w/w), β -ciclodextrina (≥ 97 % w/w), 2,2-dimetoxipropano (98% w/w), 4-(dimetilamino)piridina (DMAP 99% w/w), Iodo (99%) , resina de (H+) Dowex® 50WX2 100-200 mesh, trifenilfosfina (≥ 98 %), Pd/C (10 % w/w), 1,3-diciclohexilcarbodiimida (DCC), Sephadex® LH-20, CaH₂ grado reactivo (95 % w/w), fueron adquiridos de SIGMA-ALDRICH (St. Louis MO, USA). El p-toluensulfonato de 4-(dimetilamino)piridina (DPTS) fue preparado de acuerdo al procedimiento descrito en la literatura.⁵⁶ β -ciclodextrina-PEG.²

- **Disolventes**

Los disolventes acetona, dimetilformamida (DMF), hexano, acetato de etilo, metanol, diclorometano, dimetilsulfóxido (DMSO), etanol, benceno y 1,2 dicloroetano fueron adquiridos en TecsiQuim y secados según los procedimientos descritos cuando fue necesario.⁵⁷

- **Equipos**

- Resonancia magnética nuclear (RMN) Jeol Eclipse 300 MHz y Bruker Avance 400 MHz
- Espectrómetro de masas JEOL JMS AX505 HA (IE)
- Espectrómetro de masas JEOL JMS AX102A (FAB)
- MALDI-TOF BRUKER OMNI-FLEX
- Infrarrojo por transformada de Fourier (FT-IR) ThermoScientific Nicolet 6700
- Espectrómetro UV-Visible (UV-vis) UV300 UNICAM
- Fisher Electrothermal 9000. (punto de fusión)
- Liofilizador Labconco FreeZone1
- Calorimetría diferencial de barrido (DSC): Universal V4.5A TA Instruments USA

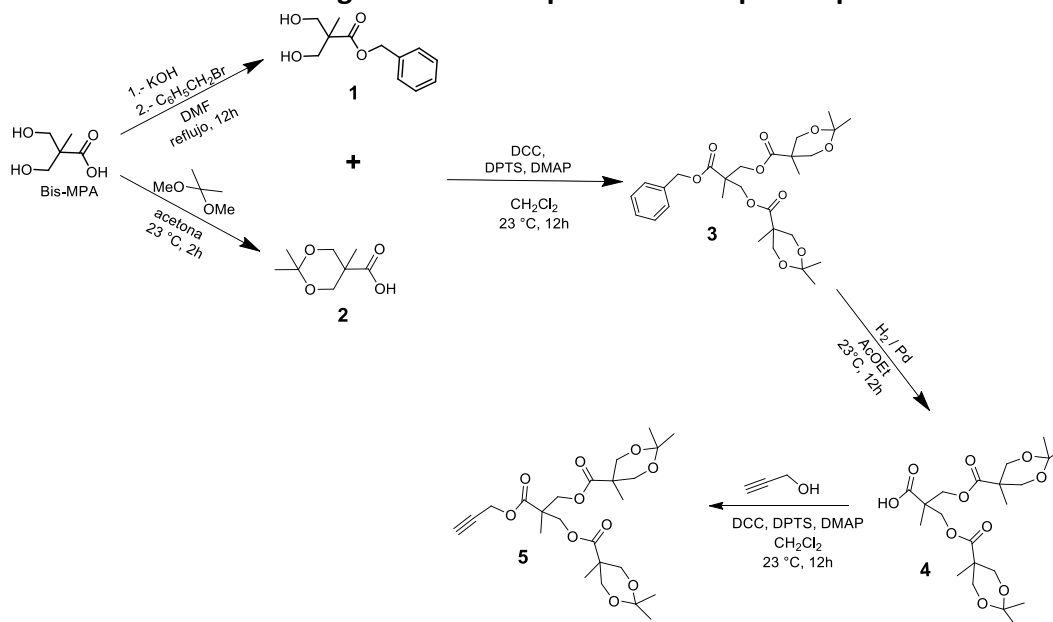
^{2 2} Este derivado fue sintetizado en el laboratorio 305 de la Facultad de Química por el M. en C. Israel Gonzales Méndez bajo la asesoría de la Dra. Yareli Rojas Aguirre.

4.2. Estrategia de síntesis

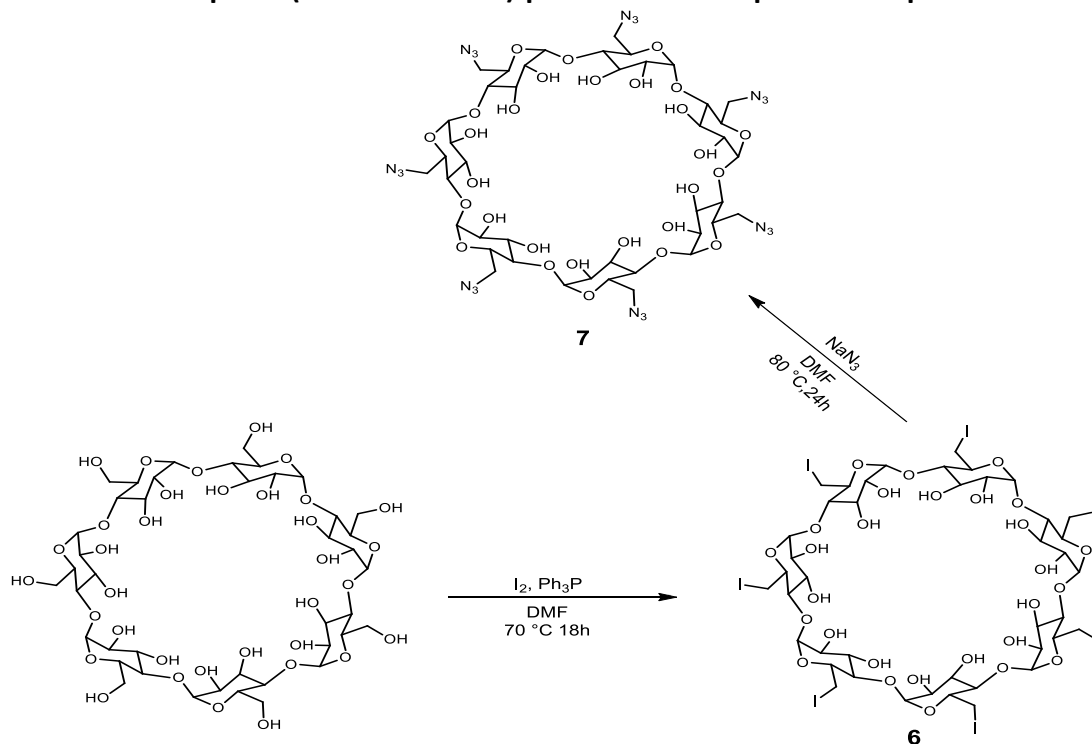
En este trabajo se aplicó la metodología convergente como estrategia sintética: acoplamiento, en un solo paso, de dendrones de segunda generación y un núcleo (β -ciclodextrina funcionalizada en su cara primaria).

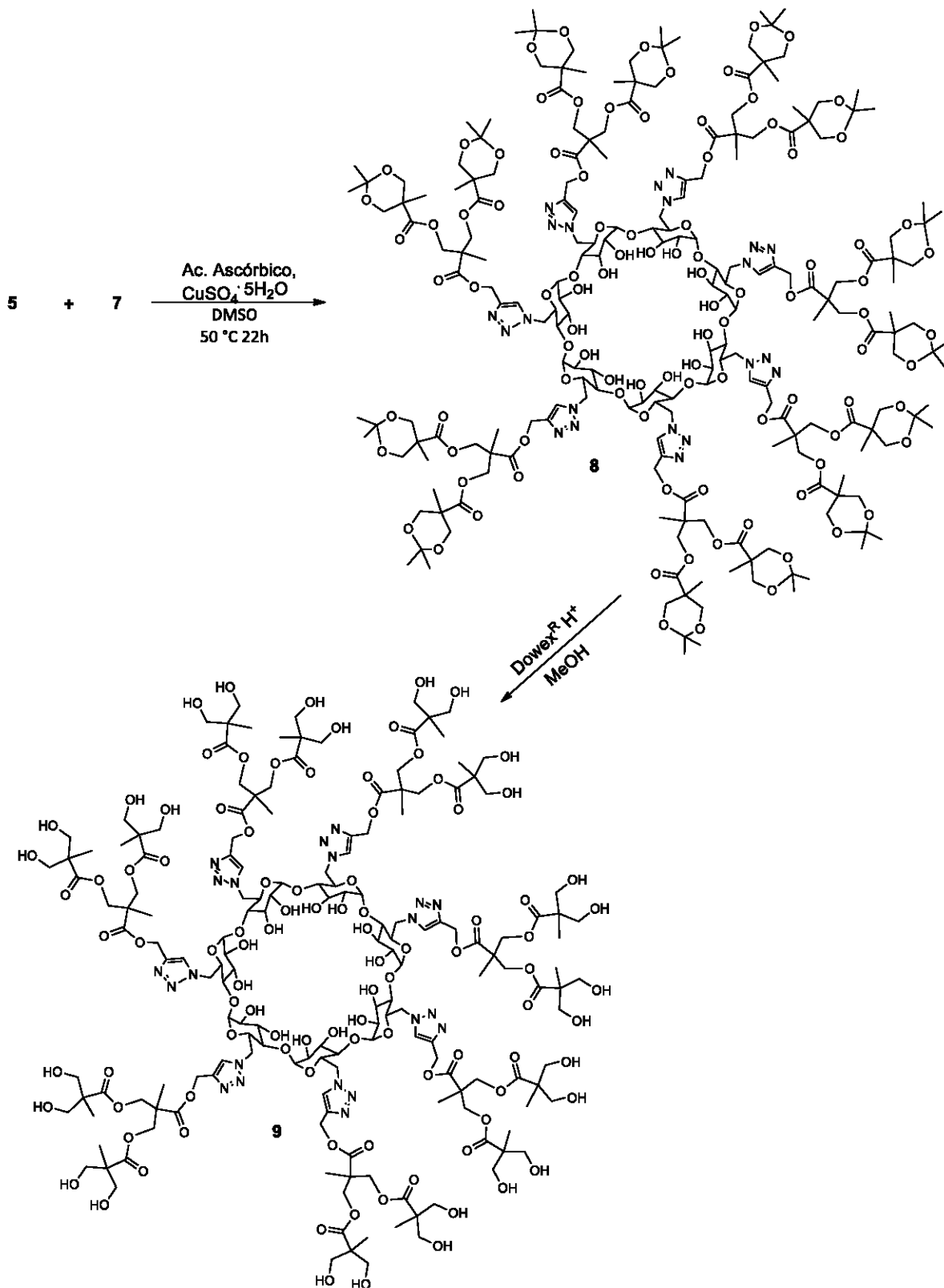
- Esquemas de reacción

Síntesis del dendrón de 2° generación con punto focal alquino a partir de bis-MPA⁵⁸



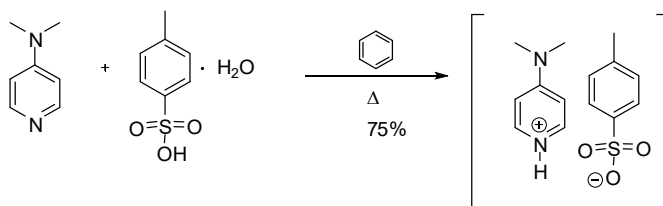
Síntesis de la heptakis(6-deoxi-6-azido)- β -ciclodextrina a partir de la β -ciclodextrina⁵⁹



Síntesis del derivado β -ciclodextrina-dendrón de 2^o Generación

4.3. Metodología de síntesis

4.3.1 DPTS (para-toluensulfonato de la 4-(dimetilamino)piridina)⁵⁶



En un matraz de dos bocas de 500 mL se acopla una trampa de Dean-Stark, se colocan 9.51 g (50 mmol) de ácido para-toluensulfónico monohidratado (*p*-TsOH·H₂O), y se purga el sistema con N₂. Posteriormente se adicionan 150 mL de benceno seco. Se colecta el azeótropo benceno-agua (100 mL) a una temperatura de 80 °C. Una vez secado el *p*-TsOH, se prepara en un matraz de 100 mL una disolución de 5.86 g (48 mmol) de DMAP con 50 mL de benceno. Se Purga con N₂ y se adiciona con cánula por la segunda boca del matraz. Se deja reaccionar por 3 horas, observándose la precipitación de DPTS. Se evapora el benceno a presión reducida, y se recristaliza el crudo de reacción con 1,2-dicloroetano (500 mL), para obtener 12.5 g (88.5% de rendimiento) de DPTS, como un sólido de color blanco y cristalino que posee un punto de fusión de: 170-172°C el cual corresponde con lo reportado en la literatura.

La caracterización presentada fue comparada con la reportada en la literatura.

RMN¹H (400 MHz, Cloroformo-*d*) δ = 14.13 (s, 1H), 8.22 – 8.12 (m, 2H), 7.81 (d, *J*=8.1, 2H), 7.16 (dd, *J*=8.7, 0.7, 2H), 6.76 (dd, *J*=7.6, 1.1, 2H), 3.18 (s, 6H), 2.34 (s, 3H).

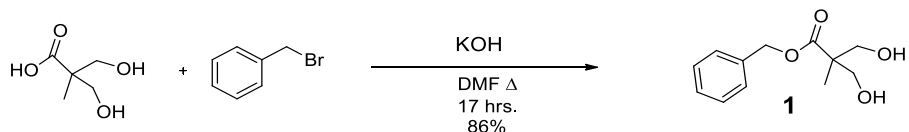
RMN¹³C{¹H} (101 MHz, Cloroformo-*d*) δ = 157.36, 142.78, 139.87, 139.58, 128.83, 126.04, 106.95, 40.20, 21.40.

FT-IR (ATR cm⁻¹): 2918, 2794.

EI+: *m/z* 294 [(M⁺)], 172 [M⁺-122]

Formula molecular: C₁₄H₁₈N₂O₃S masa calculada: 294.10 g/mol

4.3.2 Bencil-2,2-bis(metilol)propionato (1)⁵⁸



A un matraz de bola de 250 mL se agregan 9.0 g (67.1 mmol) de ácido 2,2-bis(hidroximetil)-propiónico(Bis-MPA), 4.3 g (76.8 mmol) de KOH en 50 mL de DMF anhidra. Se purga con N₂ y se agita por una hora a 100 °C hasta observar una solución homogénea. Posteriormente se adicionan 9.6 mL (80.7 mmol) de bromuro de bencilo. La reacción se mantiene en agitación y reflujo por 17 horas. Completado el tiempo de reacción se evapora la DMF a presión reducida y el crudo de reacción se disuelve en 30 mL de CH₂Cl₂ y se realizan extracciones con agua (3x30 mL). Se recupera la fase orgánica y se evapora el disolvente. Se recrystaliza por par de disolventes con una mezcla 7:3 diclorometano:hexano, para obtener 12.7 g (84.6% de rendimiento) de producto como un sólido de color blanco con punto de fusión de 71.6-73.3 °C, el cual corresponde con lo reportado en la literatura.

La caracterización presentada fue comparada con la reportada en la literatura.

RMN¹H (300 MHz, Cloroformo-*d*) δ = 7.36 (s, 9H), 5.21 (s, 2H), 3.93 (d, *J*=11.2, 2H), 3.73 (d, *J*=11.3, 2H), 2.88 (s, 2H), 1.08 (s, 3H).

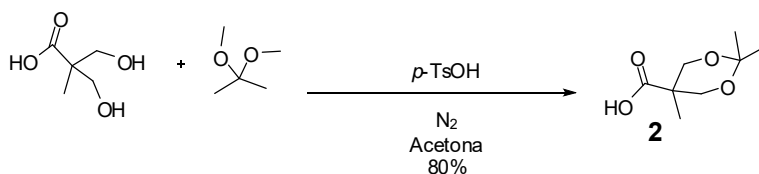
RMN¹³C{¹H} (75 MHz, Cloroformo-*d*) δ = 175.87, 135.79, 128.78, 128.45, 127.99, 68.44, 66.83, 49.38, 17.25.

FT-IR (ATR, cm⁻¹): 3515, 3350, 2993, 1707.

El+: m/z 224 [(M⁺)]

Formula molecular C₁₂H₁₆O₄ masa calculada: 224.10 g/mol

4.3.3 Ácido isopropilideno-2,2-bis(metoxi)propiónico (2)⁵⁸



En un matraz bola de 250 mL se colocan 10 g (74.55 mmol) de ácido 2,2-bis(hidroximetil)-propiónico(Bis-MPA), 0.71 g (3.73 mmol) de ácido p-toluensulfónico monohidratado. Se purga

con N_2 y se adicionan 50 mL de acetona anhidra. Se agita por 1 hora, y posteriormente, se adicionan 13.8 mL (111.83 mmol) del 2,2-dimetoxipropano, manteniendo la agitación a temperatura ambiente durante 3 horas. Terminado el tiempo de reacción, se adicionan 2 mL de una solución de $NH_3/EtOH$ (1:1) y se evapora el disolvente a presión reducida. El crudo de reacción se solubiliza en 150 mL de CH_2Cl_2 y se realizan extracciones con agua (3x20mL). La fase orgánica se seca sobre sulfato de magnesio ($MgSO_4$) y se evapora para obtener 11.73 g de **3** (90 %) como un sólido blanco, con punto de fusión de 116-117 °C. el cual corresponde con lo reportado en la literatura.

La caracterización presentada fue comparada con la reportada en la literatura.

RMN 1H (300 MHz, Cloroformo-*d*) δ = 4.19 (d, $J=12.0$, 2H), 3.68 (d, $J=12.1$, 2H), 2.18 (s, 1H), 1.45 (s, 3H), 1.42 (s, 3H), 1.22 (s, 3H).

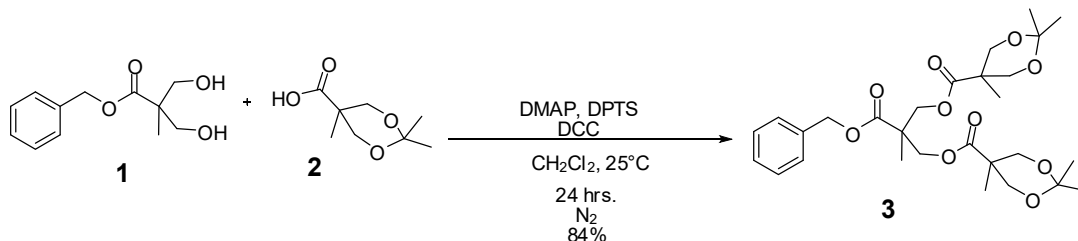
RMN $^{13}C\{^1H\}$ (75 MHz, Cloroformo-*d*) δ = 180.10, 98.49, 66.04, 41.87, 25.42, 22.04, 18.55.

FT-IR (ATR, cm^{-1}): 3416, 1717, 1069, 827.

El+: m/z 174 [(M^+)], 159[M-15 (CH_3)]

Formula molecular: $C_8H_{14}O_4$ masa calculada: 174.09 g/mol

4.3.4 [G2]- $CO_2CH_2C_6H_5$ (**3**)⁵⁸



En un matraz de bola de 100 mL se adicionan 2 g (8.9 mmol) de bencil-2,2-*bis*(metilol)propionato, 3.094 g (17.8 mmol) de isopropilideno-2,2-*bis*(metoxi)propiónico, 0.806 g (2.73 mmol) de DPTS y 0.343 g (2.8 mmol) de DMAP; el sistema se purgó con N_2 y se agregaron 35 mL de CH_2Cl_2 anhidro. Se agita por 1 hora a temperatura ambiente, para después llevar a la temperatura de un baño de hielo. Posteriormente, se adicionan 4.99 g (24.2 mmol) de *N,N*-diciclohexilcarbodiimida (DCC) disueltos en 10 mL de diclorometano anhidro. La mezcla de reacción se deja a temperatura ambiente y se mantiene en agitación por 18 horas. Terminado el tiempo de reacción, se agrega 1 mL de metanol, se filtra en un embudo con fondo poroso y la fase orgánica se evapora a presión reducida. El crudo de reacción se purifica por cromatografía en columna de silica gel, usando como eluyente una mezcla de hexano/ $AcOEt$ con un gradiente desde 7:3 hasta 2:8. Se obtienen 4.8 g (91 %) del compuesto **6** como un aceite incoloro.

La caracterización presentada fue comparada con la reportada en la literatura.

RMN¹H (400 MHz, Cloroformo-*d*) δ = 7.35 (s, 2H), 5.17 (s, 2H), 4.36 (sd, $J=1.5$, 4H), 4.12 (d, $J=11.9$, 4H), 3.59 (d, $J=11.7$, 4H), 1.42 (s, 6H), 1.35 (s, 6H), 1.32 (s, 3H), 1.10 (s, 6H).

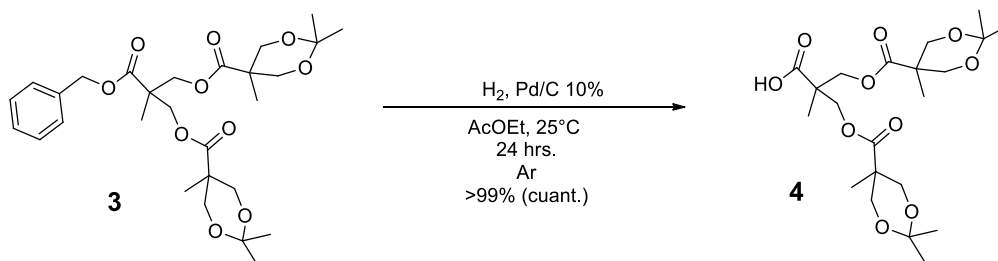
RMN¹³C{¹H} (101 MHz, Cloroformo-*d*) δ = 173.46, 172.35, 135.46, 128.58, 128.37, 128.19, 98.02, 66.89, 65.88, 65.27, 46.79, 41.98, 25.06, 22.13, 18.41, 17.70.

FT-IR (ATR, cm⁻¹): 2992, 2937, 2877, 1079, 83,1 1733.

El+: m/z 536 [(M⁺)], 521[M-15 (CH₃)]

Formula molecular: C₂₈H₄₀O₁₀ masa calculada: 536.26 g/mol

4.3.5 Dendrón de segunda generación con punto focal de ácido carboxílico: [G₂]- COOH (**4**)⁵⁸



En un matraz de bola de 100 mL se colocan 2.5 g (4.65 mmol) del compuesto **3**, 60 mL de AcOEt y 20 mg de Pd/C al 10%. El sistema se purga con argón por 10 minutos en ausencia de agitación. Posteriormente el argón es desplazado por hidrógeno. Se mantiene una agitación moderada durante 24 horas. La reacción se monitorea mediante cromatografía en capa fina, con una mezcla de elución de hexano-acetato de etilo 7:3. Una vez terminada la reacción, se filtra el Pd/C sobre celita, se evapora el sobrenadante a presión reducida y se lleva a sequedad, para obtener 2.08 g (99% de rendimiento) del producto, como un líquido viscoso de coloración ligeramente ámbar.

La caracterización presentada fue comparada con la reportada en la literatura.

RMN¹H (301 MHz, Cloroformo-*d*) δ = 4.32 (s, 4H), 4.15 (d, $J=11.9$, 4H), 3.62 (d, $J=12.1$, 4H), 1.40 (s, 3H), 1.34 (s, 3H), 1.30 (s, 3H), 1.13 (s, 6H).

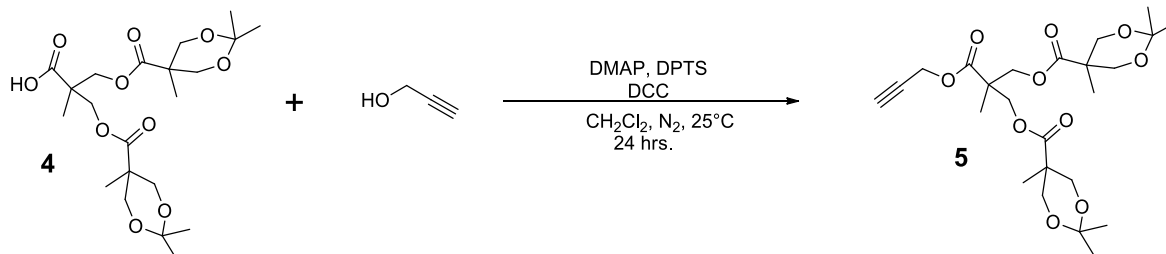
RMN¹³C{¹H} (101 MHz, Cloroformo-*d*) δ = 177.12, 173.60, 98.14, 65.93, 65.56, 41.95, 33.27, 24.49, 22.72, 18.57, 17.92.

FT-IR (ATR, cm⁻¹): 3523, 2987, 2923, 2863, 1077, 829,1723.

El+: m/z 446 [(M⁺)], 431[M-15 (CH₃)]

Formula molecular: C₂₁H₃₄O₁₀ masa calculada: 446.26 g/mol

4.3.6 Dendrón de segunda generación con punto focal alquino: [G2]- CO₂CH₂C₂H (5)⁶⁰



En un matraz bola de 50 mL provisto de un agitador magnético se colocan 1.5g (3.4 mmol) del compuesto **4**, 0.3 mL (5.0 mmol) de alcohol propargílico, 182.4 mg (0.62 mmol) de DPTS y 20.7 mg (0.17 mmol) de DMAP, y el sistema se purga con N₂. Se agregan 20 mL de CH₂Cl₂ anhidro y se agita por 1 hora, para después llevar a la temperatura de un baño de hielo. Posteriormente, se adicionan 841.7mg (4.0 mmol) de *N,N*-diciclohexilcarbodiimida (DCC) disueltos en 5 mL de diclorometano anhidro. La mezcla de reacción se deja a temperatura ambiente y se mantiene en agitación por 24 horas. Terminado el tiempo de reacción, se filtra en un embudo con fondo poroso y la fase orgánica se evapora a presión reducida. El crudo de reacción se purifica por cromatografía en columna de silica gel, usando como eluyente una mezcla de hexano/AcOEt en con un gradiente desde 7:3 hasta 2:8. Se obtienen 1.47 g (90 %) del compuesto **5** como un aceite verde pálido.

La caracterización presentada fue comparada con la reportada en la literatura.

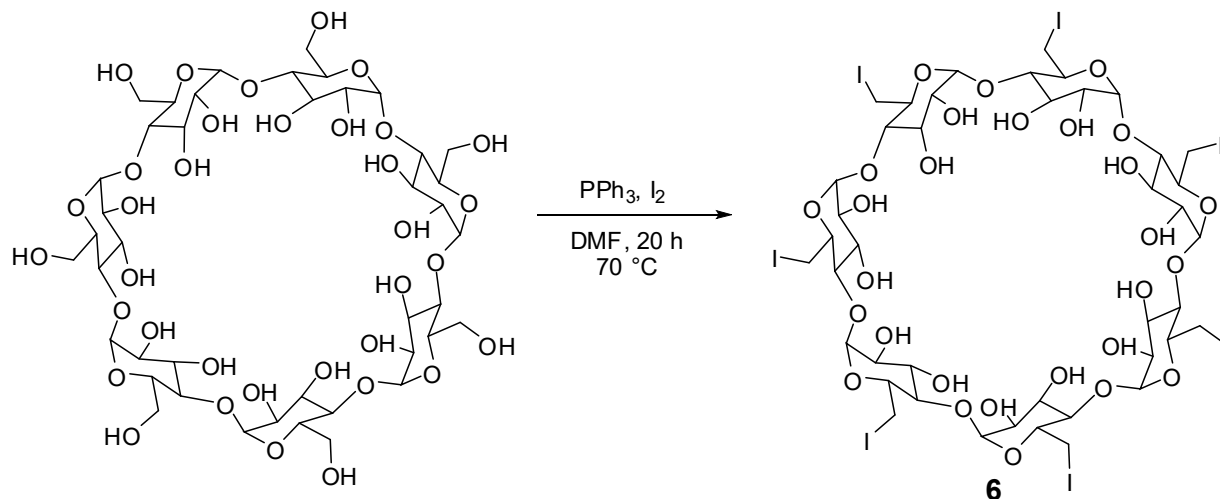
RMN¹H (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ = 4.74 (d, *J* = 2.5 Hz, 3H), 4.23 (d, *J* = 1.4 Hz, 5H), 4.00 (d, *J* = 11.7 Hz, 4H), 3.61 (d, *J* = 12.0 Hz, 4H), 3.57 (t, *J* = 2.4 Hz, 1H), 1.35 (s, 6H), 1.23 (s, 12H), 1.03 (s, 6H).

RMN¹³C{¹H} (101 MHz, DMSO) δ = 173.07, 171.49, 97.35, 77.91, 64.99, 64.82, 52.46, 46.30, 41.48, 25.56, 21.52, 17.87, 16.99.

FT-IR (ATR, cm⁻¹): 3283, 2924, 2361, 1732, 1074, 833, 728, 516

El+:m/z [M⁺] 484.5

Formula molecular: masa C₂₄H₃₆O₁₀ calculada: 484.23 g/mol

4.3.7 Heptakis(6-deoxi-6-iodo)- β -ciclodextrina (**6**)⁵⁹

En un matraz bola de 50 mL con un agitador magnético, en condiciones anhidras y atmosfera de N_2 se suspenden 3.45 g (14 mmol) de PPh_3 en 5 mL de DMF anhidra. A continuación, se transfiere por goteo a la solución anterior 3.55 g de iodo (14 mmol) en 10 mL de DMF anhidra, manteniendo la agitación durante 30 minutos a temperatura ambiente. Al término de este tiempo, a la solución color marrón oscuro se le adiciona 1.0 g (0.9 mmol) de β -ciclodextrina. La mezcla formada se calienta a 70°C durante 20 horas. Transcurrido el tiempo de reacción se retira del calentamiento y se concentra a presión reducida hasta un tercio del volumen inicial (5 mL aprox.), a este residuo se le añaden 31 mL de una solución 0.5 M de MeONa/MeOH manteniéndolo en baño de hielo y se deja en agitación constante durante 30 minutos. A continuación, se adicionan 200 mL de MeOH , formándose un precipitado, el cual se separa por filtración y se lava con MeOH . El sólido naranja resultante se purifica mediante un equipo Soxhlet usando MeOH durante 24 horas. Se retira el producto del extractor Soxhlet y se seca al vacío. Se obtienen 1.4g (85% de rendimiento) del producto **6** como un sólido café claro.

La caracterización presentada fue comparada con la reportada en la literatura.

RMN^1H (400 MHz, $\text{DMSO-}d_6$) δ = 6.02 (d, J = 6.1 Hz, 1H), 5.92 (s, 1H), 4.99 (s, 1H), 3.80 (d, J = 9.6 Hz, 1H), 3.70 – 3.62 (m, 1H), 3.58 (d, J = 7.6 Hz, 1H), 3.48 – 3.42 (m, 1H), 3.27 (s, 1H).

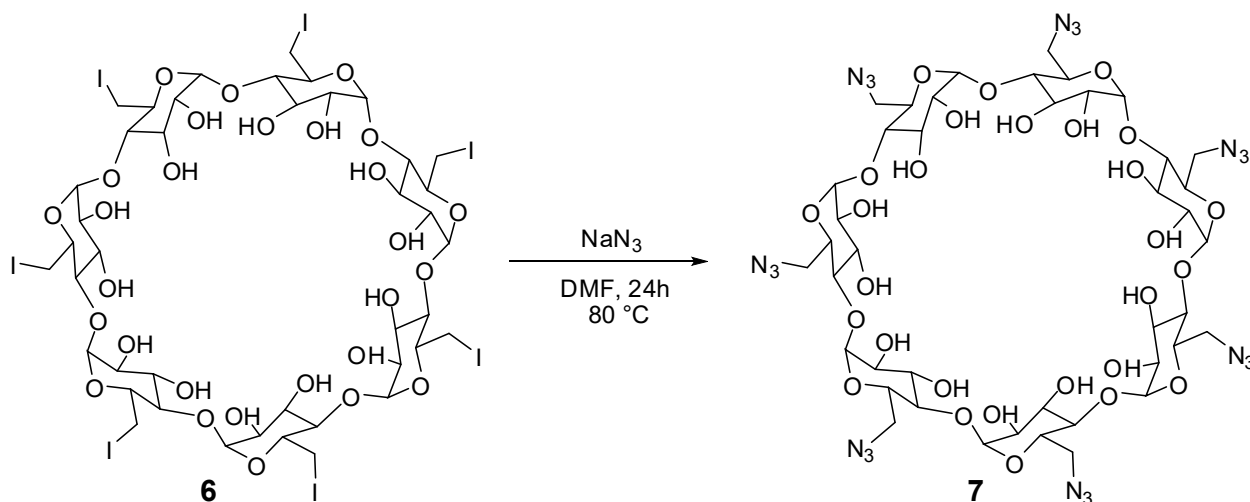
$\text{RMN}^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ (101 MHz, $\text{DMSO-}d_6$) δ = 102.06, 85.88, 72.11, 71.85, 70.85, 9.38.

FT-IR (ATR, cm^{-1}): 3327 1627 1412, 1331, 1149, 1035.

MALDI-TOF: $m/z = 1926.97 [M^{\cdot+} + Na^+]$

Formula molecular: $C_{42}H_{63}I_7O_{28}$ masa calculada: 1903.26 g/mol

4.3.8 Heptakis(6-deoxi-6-azido)- β -ciclodextrina (7)⁵⁹



En un matraz bola de 50 mL provisto de agitador magnético, en condiciones anhidras y atmosfera de N_2 se suspenden 600 mg (0.3 mmol) del compuesto **6** en 5 mL de DMF anhidra, a continuación, se agregan 205 mg de NaN_3 (3 mmol), la mezcla de reacción se calienta a $80\text{ }^{\circ}\text{C}$ durante 24 horas. Transcurrido el tiempo de reacción se retira del calentamiento y se concentra a presión reducida hasta un tercio del volumen inicial (2 mL aprox.). A este residuo se le agregan 150 mL de agua destilada, observándose la formación de un sólido color café, el cual se lava con agua destilada y se seca al vacío para obtener 386 mg (0.29 mmol, 93.5%) de per-6-azido- β -ciclodextrina como un sólido café claro.

La caracterización presentada fue comparada con la reportada en la literatura.

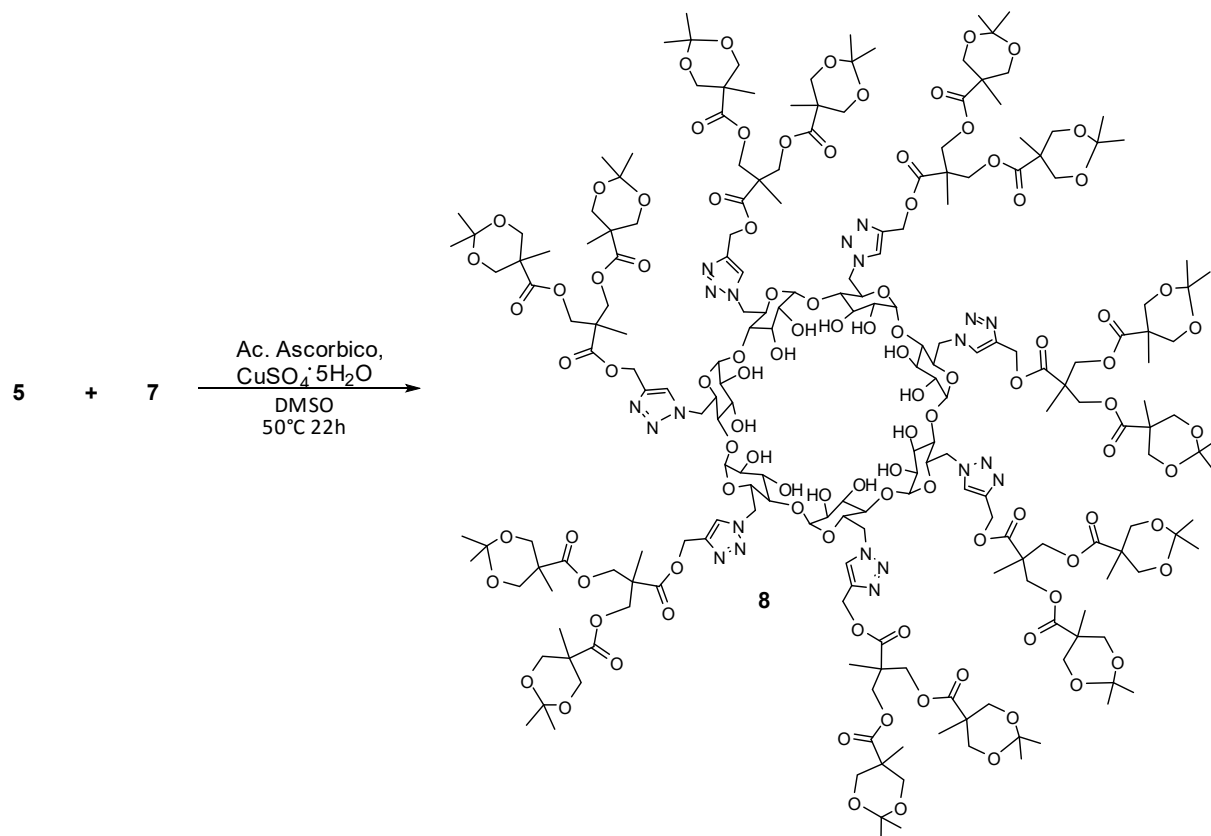
RMN¹H (400 MHz, DMSO- d_6) $\delta = 5.92 - 5.86$ (m, 1H), 5.75 (s, 1H), 4.91 (s, 1H), 3.82 - 3.68 (m, 2H), 3.59 (s, 2H), 3.36 (s, 3H).

RMN ¹³C{¹H} (101 MHz, DMSO- d_6) $\delta = 101.98, 83.12, 72.51, 71.94, 70.25, 51.26$.

FT-IR (ATR, cm^{-1}): 3331 2099 1650 1438, 1285, 1152, 1041

MALDI-TOF: $m/z = 1332.02 [M^{\cdot+} + Na^+]$

Formula molecular: $C_{42}H_{63}N_{21}O_{28}$ masa calculada: 1309.42 g/mol

4.3.9 β -ciclodextrina-[G2]-protegido (**8**)³

En un matraz bola de 25 mL provisto de un agitador magnético se colocan 5 mL de DMSO, 1 mL de agua destilada, 50 mg (.038 mmol) del compuesto **7**, 142 mg (0.293 mmol) del compuesto **5**, y una solución con 8.26 mg (0.033 mmol) de $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ en 1 mL de DMSO. Se evacua el oxígeno del sistema mediante vacío y posteriormente se purga con N_2 . Se agrega una solución con 17.5 mg (0.099 mmol) de ácido ascórbico en 1 mL de DMSO. La mezcla de reacción se calienta a 50°C y se mantiene en agitación durante 22 horas. Pasado el tiempo de reacción se evapora todo el disolvente a presión reducida, el crudo de reacción se resuspende en metanol y se filtra con celita. El sobrenadante se purifica mediante cromatografía de exclusión de tamaño con Sephadex LH-20 como fase estacionaria y metanol como fase móvil. Se obtienen 161.5 mg (91% de rendimiento) de β -ciclodextrina-[G2]-protegido (**8**) como un aceite viscoso de color verde claro.

NMR ^1H (400 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) δ = 7.95 (s, 7H), 6.01 (s, 6H), 5.90 (s, 6H), 5.01 (d, J = 53.4 Hz, 23H), 4.48 (s, 6H), 4.32 (s, 6H), 4.18 (s, 31H), 3.95 (d, J = 11.2 Hz, 18H), 3.68 (s, 7H), 3.57 (d, J = 11.2 Hz, 19H), 3.41 (s, 14H), 3.25 (s, 7H), 1.33 (s, 36H), 1.20 (s, 39H), 1.14 (s, 19H), 0.98 (s, 42H).

³ Esta reacción se llevó a cabo con la asesoría de la Dra. Yareli Rojas Aguirre y su alumno M. en C Israel Gonzales Méndez, de la Facultad de Química

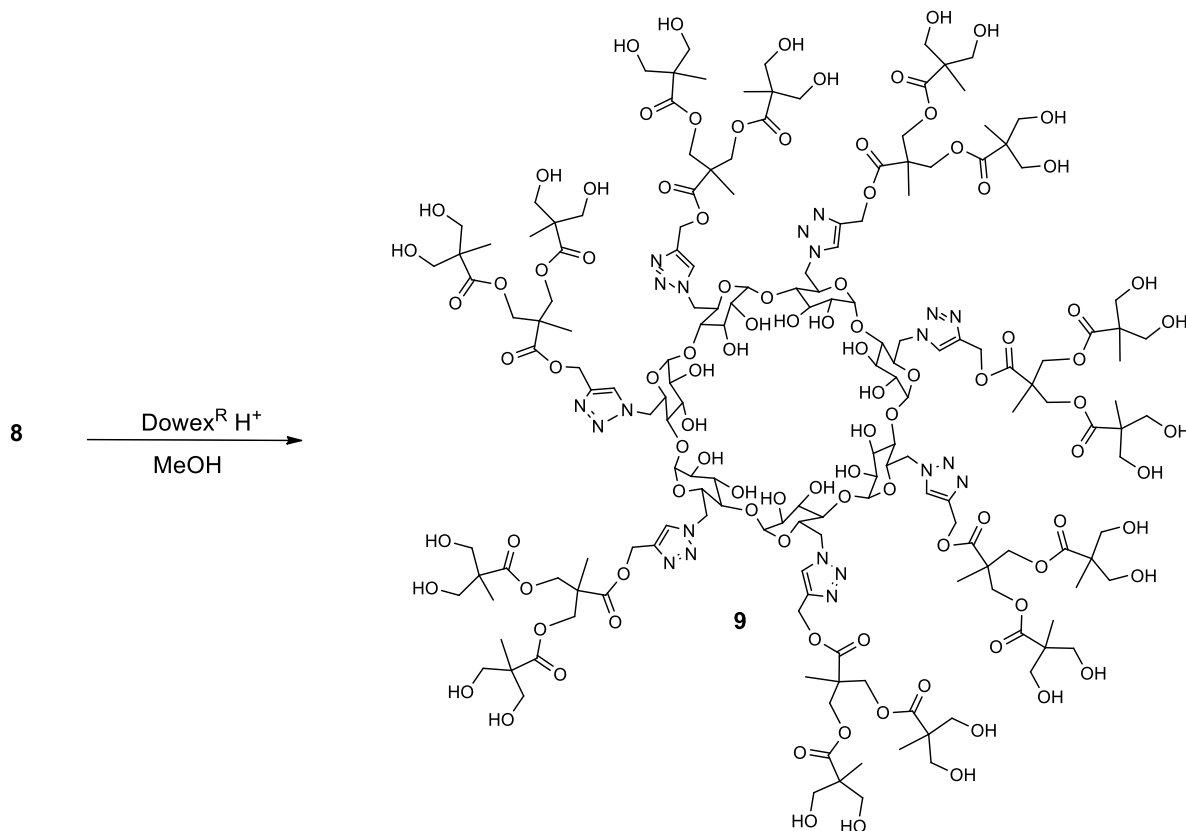
NMR $^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ (101 MHz, $\text{DMSO-}d_6$) δ = 173.94, 173.00, 141.21, 126.23, 101.68, 97.32, 64.96, 64.53, 63.61, 57.69, 50.16, 46.09 (d, J = 6.1 Hz), 41.38 (d, J = 8.2 Hz), 25.33 (d, J = 40.4 Hz), 21.67 (d, J = 43.2 Hz), 17.76, 17.00, 16.63.

FTIR (ATR, cm^{-1}): 3356, 2924, 1727, 1047, 824, 729

MALDI-TOF: m/z = 4725.89 [$\text{M}^+ + \text{Na}^+$]

Formula molecular: $\text{C}_{210}\text{H}_{315}\text{N}_{21}\text{O}_{98}$ masa calculada: 4701.83 g/mol

4.3.10 β -ciclodextrina-[G2]-OH (9)



En un matraz bola de 50 mL provisto de un agitador magnético, se colocan 224 mg (0.054mmol) del compuesto **8**, y se disuelven con 35 mL de metanol. Se agita a temperatura ambiente hasta solubilizar todo el compuesto. Posteriormente se agregan 85 mg de Dowex[®] 50WX2. La mezcla de reacción se mantiene en agitación a temperatura ambiente por 6 horas. Transcurrido este tiempo la mezcla de reacción se lleva a sequedad, para obtener 124 mg (99 % de rendimiento) del producto **9** como un aceite viscoso color verde pálido.

NMR¹H (400 MHz, $\text{DMSO-}d_6$) δ = 7.93 (s, 7H), 5.99 (d, J = 6.1 Hz, 6H), 5.89 (s, 7H), 5.06 (s, 7H), 4.96 (q, J = 13.3 Hz, 14H), 4.62 (t, J = 5.5 Hz, 30H), 4.52 (d, J = 11.7 Hz, 7H), 4.33 (d, J = 12.8 Hz,

7H), 4.09 (d, $J = 11.5$ Hz, 28H), 3.68 (t, $J = 8.5$ Hz, 8H), 3.46 – 3.38 (m, 57H), 3.26 (d, $J = 9.4$ Hz, 8H), 3.19 (s, 7H), 1.11 (s, 23H), 0.98 (s, 42H).

NMR¹³C{¹H} (101 MHz, DMSO-*d*₆) $\delta = 173.98, 172.08, 141.17, 126.49, 101.66, 82.40, 72.19, 71.72, 69.32, 64.42, 63.66, 57.62, 50.18, 49.41, 46.03, 17.06, 16.61.$

FT-IR (ATR, cm⁻¹): 3349, 2923, 1732, 1225, 1144, 1050

MALDI-TOF: $m/z = 4172.74 [M^+ + CH_3OH]$

Formula molecular: C₁₆₈H₂₅₉N₂₁O₉₈ masa calculada 4141.2 g/mol

4.4 Método general para la determinación de la solubilidad de los derivados de β -ciclodextrina

La determinación de la solubilidad de la β -ciclodextrina-[G2]-OH así como del derivado β -ciclodextrina-PEG se realizó de acuerdo al método shake-flask⁶¹ el cual se puede dividir en dos etapas; la primera es la preparación de una curva de calibración, vía espectroscopia UV-vis de los derivados de β -ciclodextrina, y la segunda es la elaboración de un diagrama de solubilidad, que consiste en la preparación de diferentes disoluciones en un volumen constante de agua milli Q, con cantidades crecientes de los derivados de β -ciclodextrina. Dichas disoluciones se ponen en agitación por 6 horas y posteriormente se filtran con una membrana millipore con tamaño de poro de 0.45 μ m, y se cuantifica la cantidad del derivado en disolución con ayuda de la curva de calibración. Finalmente, se hace un diagrama de solubilidad, graficando la cantidad de derivado agregado contra la cantidad de derivado disuelto.

Determinación de la solubilidad de la β -ciclodextrina-PEG

- ❖ Preparación de la curva de calibración.

Se prepara una disolución inicial del derivado β -ciclodextrina-PEG en agua milli-Q, con una concentración de 0.1 mM, y a partir de esta disolución se toman las alícuotas correspondientes para preparar disoluciones con las siguientes concentraciones: 0.05 mM, 0.042 mM, 0.032 mM, .021 mM, 0.011 mM. Por último, se hacen lecturas de absorbancia a una longitud de onda máxima de 278 nm para el derivado β -ciclodextrina-PEG.

- ❖ Elaboración del diagrama de solubilidad.

En diferentes viales se pesan las siguientes cantidades de β -ciclodextrina-PEG: 1.8 mg, 4.3 mg, 7.8 mg, 17.7 mg, 30.7 mg, 53.5 mg y 67 mg y se disuelven en 1 mL de agua milli Q. Se mantienen en agitación a 25 °C durante 1 día. Pasado este tiempo se filtran las disoluciones con una

membrana millipore de 0.45 μm . Por último, se hacen las diluciones necesarias para cuantificar, con ayuda de la curva de calibración, la cantidad de β -ciclodextrina-PEG.

Determinación de la solubilidad de la β -ciclodextrina-[G2]-OH

❖ Preparación de la curva de calibración

Se prepara una disolución inicial del derivado β -ciclodextrina [G2]-OH en agua milli-Q, con una concentración de 0.13 mM. A partir de esta disolución se toman las alícuotas correspondientes para preparar disoluciones con las siguientes concentraciones: 0.10 mM, 0.091 mM, 0.083 mM, 0.067 mM, 0.047 mM, 0.028 mM, 0.026 mM. Por último, se hacen lecturas de absorbancia a una longitud de onda máxima de 215 nm para el derivado β -ciclodextrina-[G2]-OH.

❖ Elaboración del diagrama de solubilidad

En diferentes viales se pesan las siguientes cantidades de β -ciclodextrina-[G2]-OH: 80.1 mg, 41.7 mg, 20.4 mg, 11.1 mg, 1.2 mg, y se disuelve cada una de las muestras anteriores en 0.130 mL de agua milli Q. Se dejan en agitación a 25 °C durante 1 día. Pasado este tiempo se filtran las disoluciones con una membrana millipore de 0.45 μm , y se hacen las diluciones necesarias para cuantificar, con ayuda de la curva de calibración, la cantidad de β -ciclodextrina-[G2]-OH.

4.5 Método general para la formación de complejos de inclusión de derivados de β -ciclodextrina-albendazol

Se prepara una dispersión del albendazol en etanol y otra disolución del derivado de β -ciclodextrina en agua milli Q. Se mezclan ambas disoluciones y se agita durante 6 horas a temperatura ambiente. Pasado este tiempo, se evapora el disolvente, se resuspende el sólido obtenido en agua milli Q y se filtra la disolución con una membrana millipore de 0.45 μm . La disolución es liofilizada. El sólido obtenido es caracterizado por UV-vis.

4.5.1 Complejo β -ciclodextrina-albendazol

Se prepara una dispersión con 2.60 mg (0.0098 mmol) de albendazol en 10 mL de etanol, de manera paralela, se prepara una disolución de 11.12 mg (0.0098 mmol) de β -ciclodextrina en 10 mL de agua milli Q. Se mezclan las soluciones anteriores en un matraz bola de 25 mL y mantener en agitación a 25 °C por 24 horas. Pasado este tiempo, se concentra al vacío, se resuspende el sólido en agua milli Q y se filtra con una membrana millipore de 25 μm . Por último, se liofiliza la solución.

4.5.2 Complejo β -ciclodextrina-PEG-albendazol

Se prepara una dispersión con 2.60 mg (0.0098 mmol) de albendazol en 10 mL de etanol, de manera paralela, se prepara una disolución de 54.9 mg (0.0098 mmol) de β -ciclodextrina-PEG

en 10 mL de agua milli Q. Mezclar las disoluciones anteriores en un matraz bola de 25 mL y mantener en agitación a 25 °C por 24 horas. Pasado este tiempo, se concentra al vacío, se resuspende el sólido en agua milli Q y se filtra con una membrana millipore de 25 µm. Por último, se liofiliza la solución.

4.5.3 Complejo β -ciclodextrina-[G2]-OH-albendazol

Se prepara una dispersión con 2.60 mg (0.0098 mmol) de albendazol en 10 mL de etanol, de manera paralela, se prepara una disolución de 40.58 mg (0.0098 mmol) de β -ciclodextrina-[G2]-OH en 10 mL de agua milli Q. Mezclar las disoluciones anteriores en un matraz bola de 25 mL y mantener en agitación a 25 °C por 24 horas. Pasado este tiempo, se concentra al vacío se resuspende el sólido en agua milli Q y se filtra con una membrana millipore de 0.45 µm. Por último, se liofiliza la solución.

4.6 Método general para la elaboración de mezclas físicas β -ciclodextrina-albendazol, y derivados de β -ciclodextrina-albendazol

En un vial se colocan cantidades equimolares de albendazol y del derivado de β -ciclodextrina, se mezclan con la ayuda de un agitador de vidrio durante 15 minutos. El sólido obtenido es caracterizado por DSC.

4.6.1 Mezcla física β -ciclodextrina-albendazol

En un vial se colocan 11.12 mg (0.0098mmol) de β -ciclodextrina y 2.60 mg (0.0098mmol) de albendazol. Se mezclan con la ayuda de un agitador de vidrio durante 15 minutos. El sólido obtenido es caracterizado por DSC.

4.6.2 Mezcla física β -ciclodextrina-PEG-albendazol

En un vial se colocan 54.9 mg (0.0098mmol) del derivado β -ciclodextrina-PEG y 2.60 mg (0.0098mmol) de albendazol. Se mezclan con la ayuda de un agitador de vidrio durante 15 minutos. El sólido obtenido es caracterizado por DSC.

4.6.3 Mezcla física β -ciclodextrina-[G2]-OH-albendazol

En un vial se coloca 40.58 mg (0.0098mmol) del derivado β -ciclodextrina-[G2]-OH y 2.60 mg (0.0098mmol) de albendazol. Se mezclan con la ayuda de un agitador de vidrio durante 15 minutos. El sólido obtenido es caracterizado por DSC.

5. Análisis de resultados.

5.1 Estrategia sintética.

Como se ha mencionado, la estrategia sintética consistió en la aplicación de un método convergente en donde se prepararon por un lado los dendrones de segunda generación de tipo poli(éster), basados en Bis-MPA y por otro lado, a partir de la β -ciclodextrina, se sintetizó la heptakis (6-deoxi-6-azido)- β -ciclodextrina con siete grupos azida en la cara primaria de la β -ciclodextrina. Posteriormente estas unidades estructurales (dendrones y β -ciclodextrina) se acoplaron en un solo paso para obtener los productos deseados. En primera instancia se sintetizaron los dendrones de primera generación utilizando como unidad estructural el Bis-MPA, que se sometió a reacciones de protección (del grupo ácido con un grupo bencilo para dar **1** y de los grupos hidroxilo con la formación de un cetal para dar **2**). Los compuestos **1** y **2** fueron caracterizados por RMN de ^1H y ^{13}C , FT-IR y espectrometría de masas. Para el compuesto **1** se muestra el espectro de RMN de ^1H (Figura 5.1) en el cual se observan señales características del grupo bencilo; en 7.36 ppm un singulete que integra para 5 H, y que corresponde al anillo aromático, también se observa en 5.21 ppm la presencia de una señal que integra para 2 H y que corresponde al CH_2 de este grupo protector, mientras que en 3.93 ppm y 3.73 ppm se observan dos dobletes que corresponden a los grupos CH_2 del Bis-MPA, de igual manera a 2.88 ppm, se observa una señal ancha que corresponde a los grupos OH. Y por último a 1.08 ppm se observa, un singulete que integra para 3 H, que corresponde al grupo CH_3 presente en la molécula.

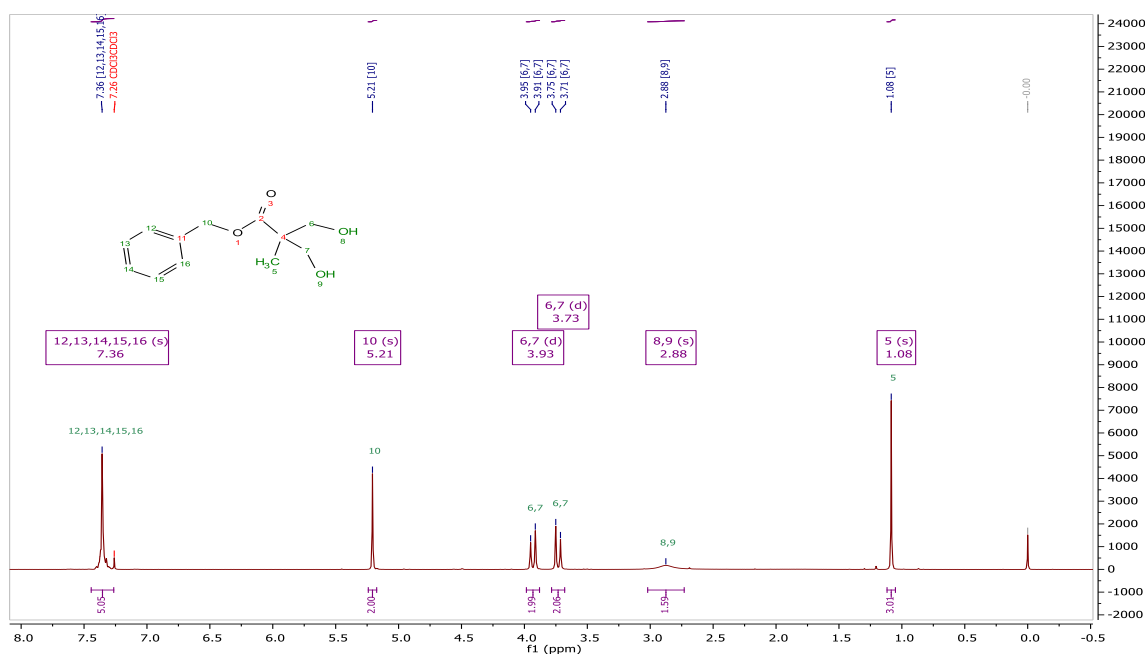


Figura 5.1. Espectro de RMN ^1H en CDCl_3 del compuesto **1**.

Por otro lado, se llevó a cabo la protección de los hidroxilos del Bis-MPA mediante la formación de un cetal, para obtener el compuesto **2**.

Para este producto se muestra a continuación el espectro de masas (EM-IE), en el cual no se observa el ion molecular, pero sí un pico en 159 m/z [$M^+ - 15$], que corresponde al ion molecular con la pérdida de un radical metilo; esta pérdida puede explicarse mediante el mecanismo propuesto que se muestra en la Figura 5.2, cuya fuerza motriz podría ser la formación de un producto π -conjugado (estructura mostrada en el recuadro).

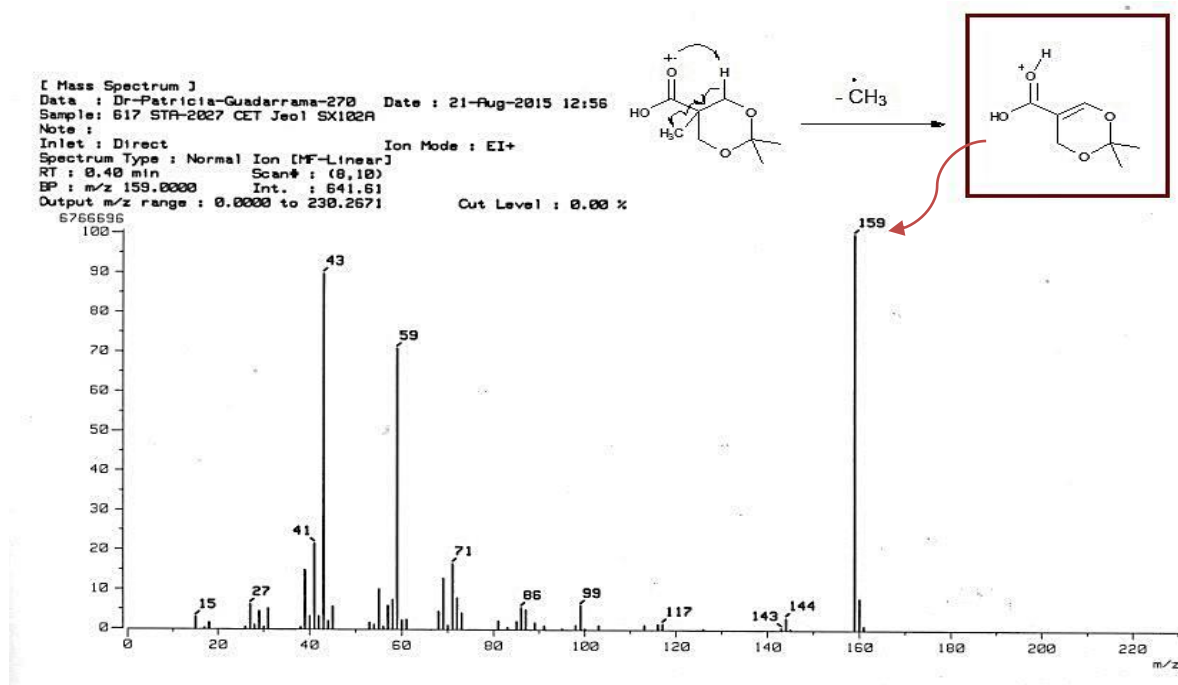


Figura 5.2. Espectro de masas del compuesto **2**

Por otro lado en el espectro de RMN de 1H , se observan las señales que corresponden a este producto; a 4.19 ppm y 3.68 ppm se observan dos dobletes que corresponden a los grupos CH_2 mientas que a 1.45 ppm y a 1.42 ppm se observan dos singuletes que integran para 3 H cada uno y que corresponden a los grupos CH_3 del cetal, por ultimo a 1.22 ppm se observa un singulete que integra para 3 H y que corresponde al grupo CH_3 en la posición alfa. (Figura 5.3)

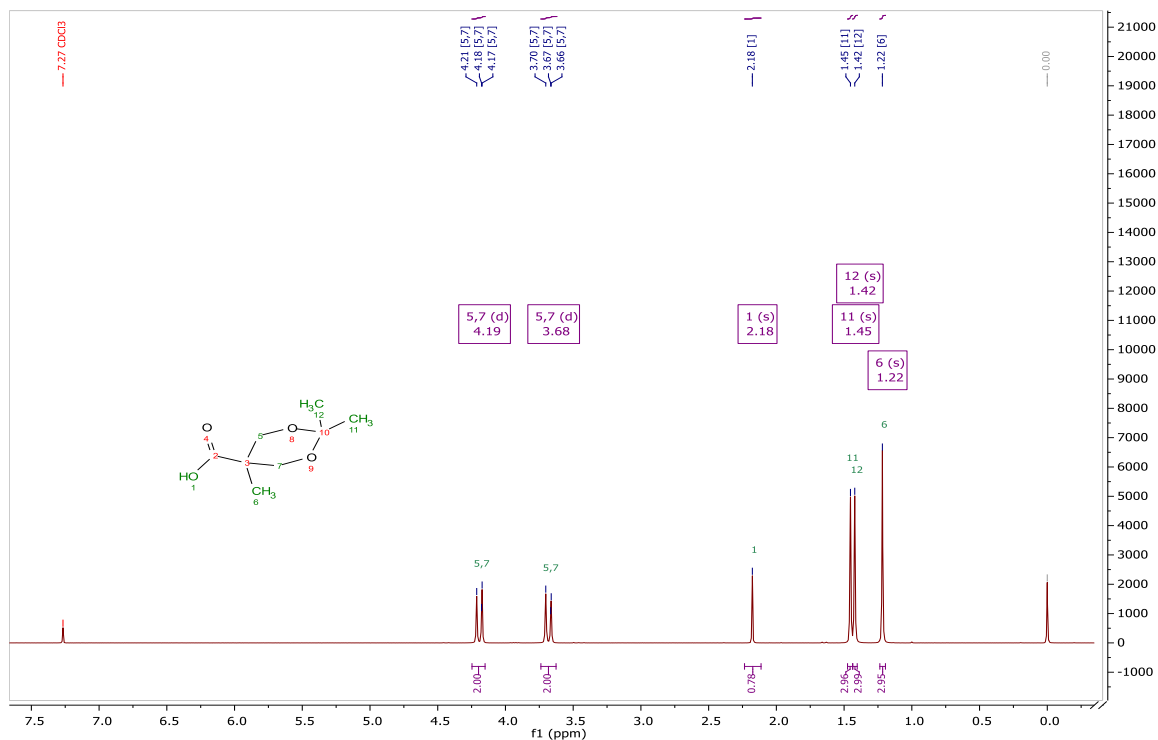


Figura 5.3. Espectro de RMN ^1H en CDCl_3 del compuesto **2**

Una vez obtenidos **1** y **2**, se procede a su acoplamiento para la obtención del dendrón protegido ortogonalmente (**3**). La reacción utilizada es una esterificación de Steglich modificada en la cual se utiliza DCC, DMAP y DPTS. Cabe mencionar que, por su eficiencia, este sistema ha sido implementado en nuestro grupo de trabajo, ya que da mejores rendimientos que los sistemas DCC, DMAP o DCC, DPTS, utilizados tradicionalmente.⁶² La obtención de **3** fue confirmada mediante RMN ^1H el cual se muestra en la figura 5.4 C, en comparación con los espectros de **1** y **2** (A y B respectivamente); Como primera señal a campo bajo, se observa en 7.36 ppm una señal que integra para 5 H y que corresponde al anillo aromático del grupo bencilo, en 5.17 ppm una señal del CH_2 del grupo bencilo, en 4.36 ppm se observa una señal que corresponde a los CH_2 de la primera generación, en 4.12 ppm y 3.59 ppm, se observan dos dobletes que corresponden a los grupos CH_2 de los heterociclos, a 1.42 ppm y 1.35 ppm dos señales que integran para 6H cada una y que corresponden a los metilos del grupo cetil, finalmente a 1.33 ppm y a 1.10 ppm hay dos señales que integran para 3 H cada una y que corresponden a los metilos de la primera y segunda generación respectivamente.

Por otro lado, también podemos observar en la comparación (Figura 5.4), de los espectros de RMN ^1H de los productos **1**, **2** y **3**, que para el compuesto **3** (espectro C) se encuentra la presencia de señales de los grupos protectores mencionados anteriormente. La caracterización de este producto fue completada con RMN ^{13}C , FT-IR, y espectrometría de masas.

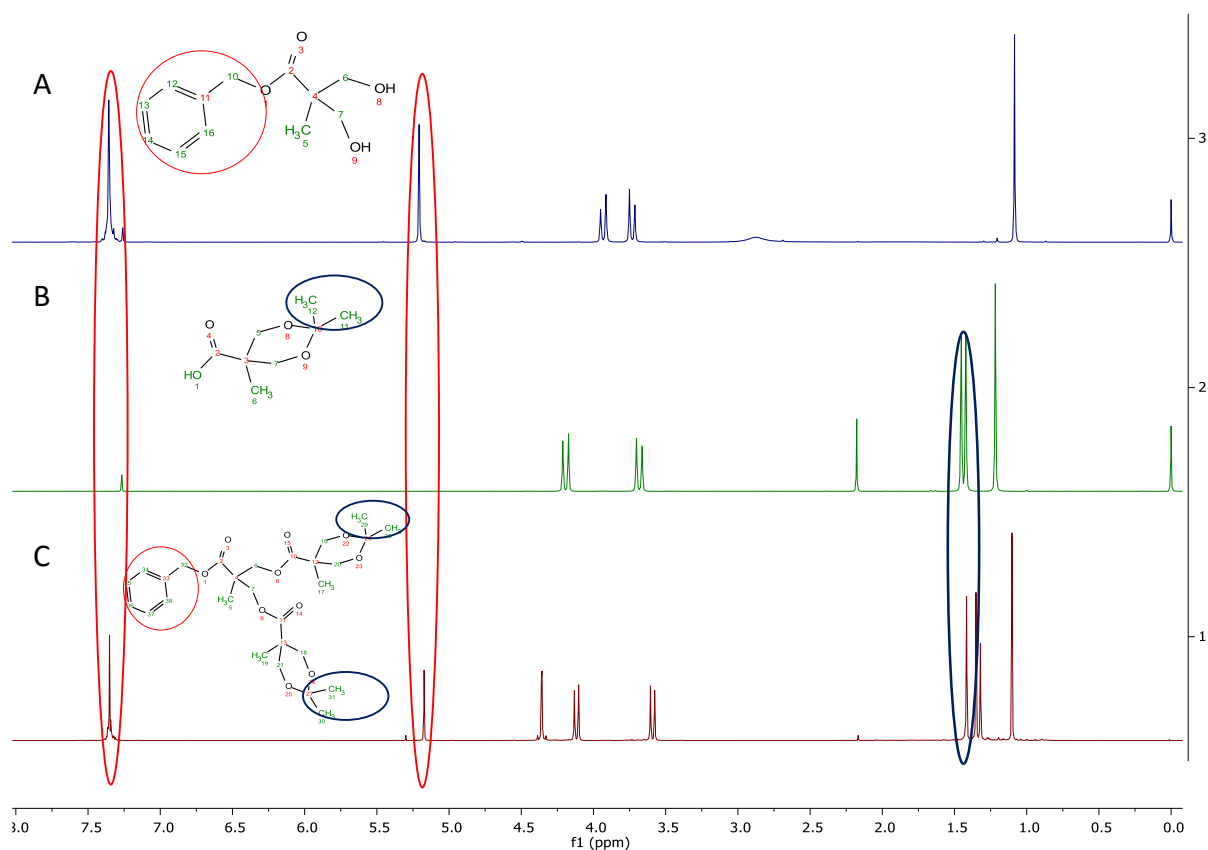


Figura 5.4. Comparación de los espectros de RMN ^1H en CDCl_3 de A) **1**, B) **2** C) **3**.

Una vez obtenido el dendrón de segunda generación **3**, se desprotegió selectivamente el grupo ácido, mediante una hidrogenólisis catalizada por Pd/C para obtener el producto **4**, con un rendimiento del 99 %, que fue caracterizado por RMN de ^1H y ^{13}C , FT-IR y espectrometría de masas. A continuación, se analiza el espectro de RMN de ^1H .

En 7.0 ppm se observa una señal ancha que corresponde al H del ácido carboxílico, a 4.32 ppm una señal que integra para 4 H y que corresponde a los grupos CH_2 de la primera generación, mientras que a 4.15 ppm y a 3.62 ppm se observan los dos dobletes que corresponden a los grupos CH_2 de los heterociclos, a campo alto se observan dos singletes a 1.40 y 1.34 ppm que integran para 6 H cada uno y que corresponden a los metilos del grupo protector acetal, finalmente a 1.30 y 1.13 ppm se observan dos singletes que corresponden a los grupos CH_3 de la primera y segunda generación respectivamente.

ANALISIS DE RESULTADOS

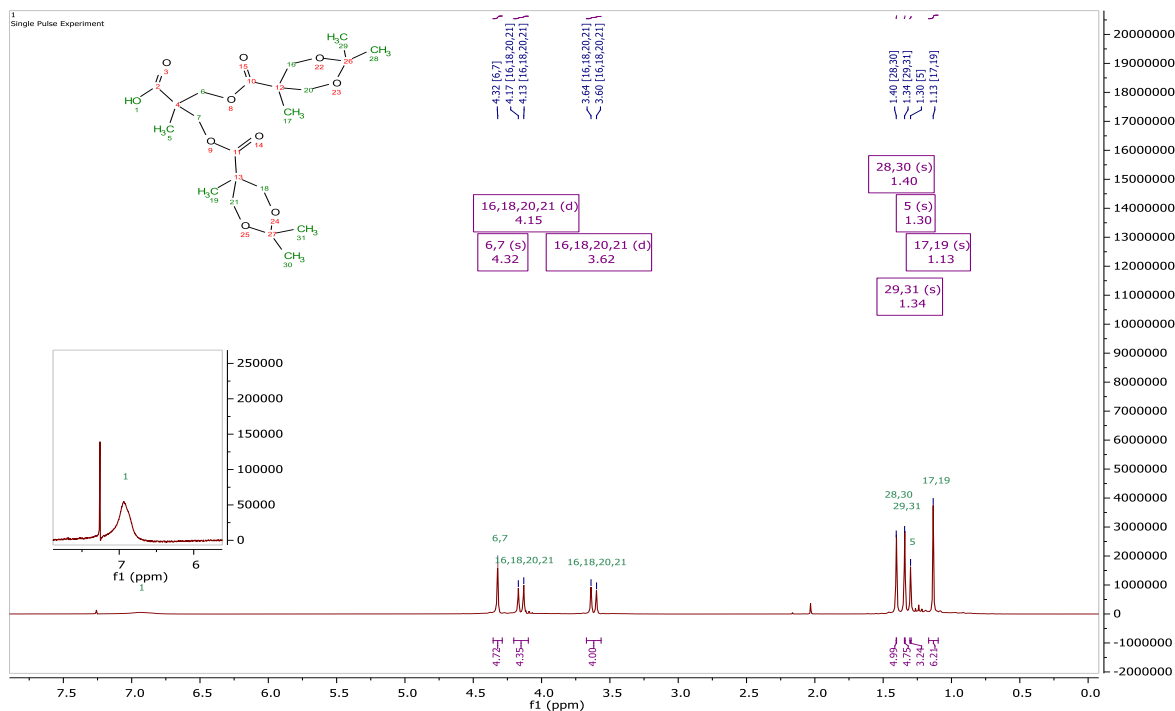


Figura 5.5. Espectro de RMN ^1H en CDCl_3 del compuesto 4

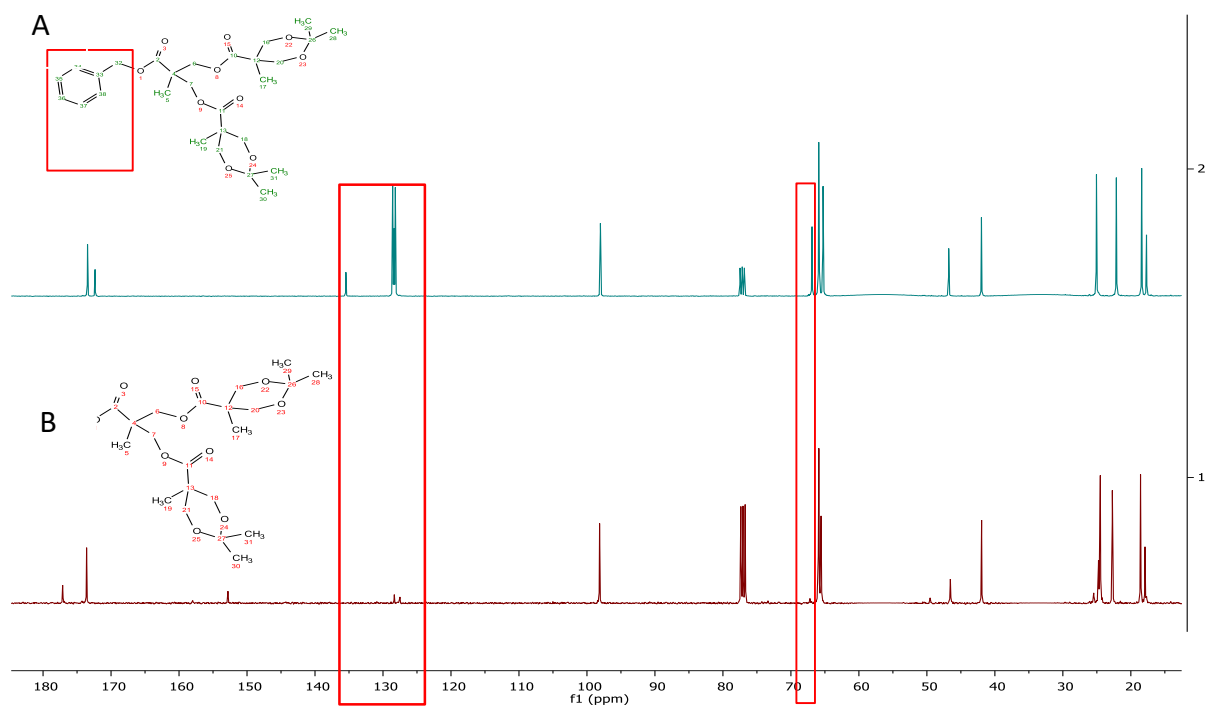


Figura 5.6. Comparación de los espectros de RMN ^{13}C en CDCl_3 de A) 3, B) 4

Al comparar los espectros de RMN ^{13}C de los productos **3** y **4** (espectros A y B respectivamente), se observa la desaparición de las señales del grupo bencilo (Figura 5.6).

Una vez confirmada la obtención del compuesto **4**, se procedió a su derivatización con alcohol propargílico para tener un grupo focal alquino, necesario para llevar a cabo la reacción “click”. Nuevamente se siguió el protocolo de Steglich modificado para este fin. Este producto (compuesto **5**) fue caracterizado por FT-IR, espectrometría de masas y RMN de $^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ y ^1H , este último se muestra en la figura 5.7.

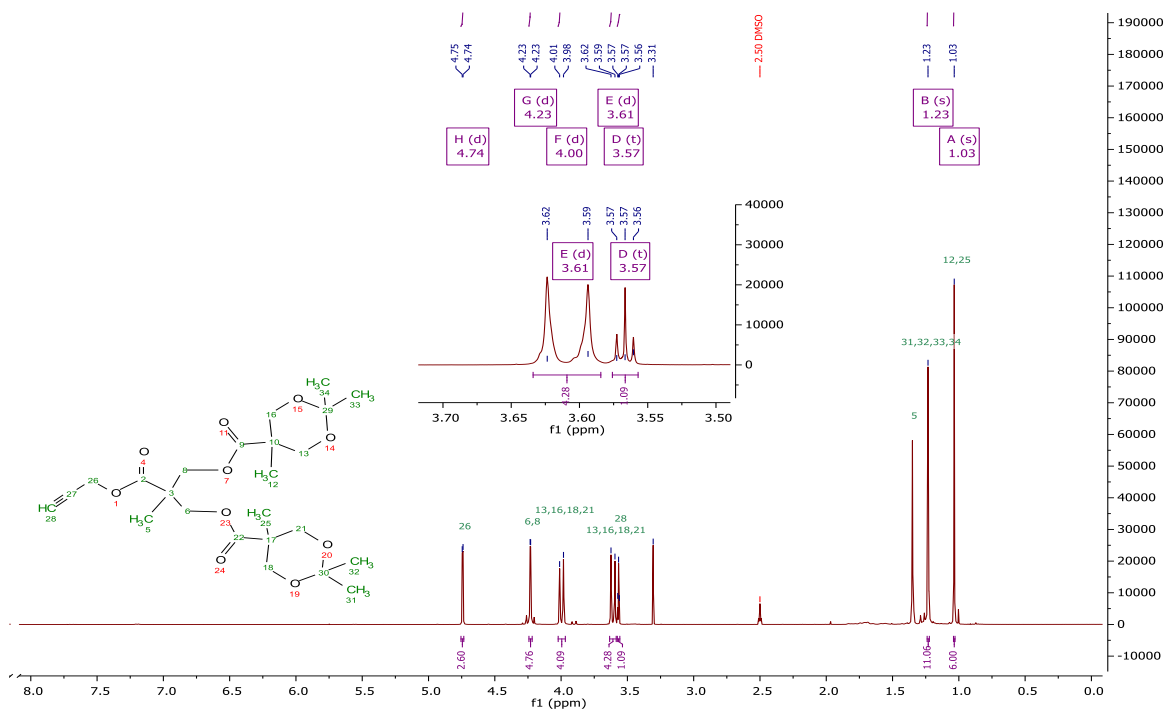


Figura 5.7. Espectro de RMN ^1H en DMSO- d_6 de **5**.

En el espectro se puede observar a 1.03 ppm una señal que integra para 6 hidrógenos y que corresponde a los metilos de la segunda generación, mientras que a 1.33 ppm se observa una señal que integra para 3 hidrógenos que corresponde al metilo de la primera generación. Como confirmación de la transformación del punto focal ácido al alquino, se observa una señal a 3.57 ppm que integra para un hidrogeno y que corresponde al hidrogeno de este último grupo funcional.

Para realizar la reacción “click” son necesarios los grupos azida y alquino en los reactivos de interés; por ello, una vez que se sintetizó el dendrón con punto focal alquino, se procedió a la incorporación de siete grupos azida en la cara primaria de la β -ciclodextrina, para obtener la heptakis(6-deoxi-6-azido)- β -ciclodextrina (compuesto **7**).

Como primer paso se lleva a cabo la síntesis de la heptakis(6-deoxi-6-iodo)- β -ciclodextrina **6**, la cual fue caracterizada por FT-IR, RMN ^{13}C , RMN ^1H , y espectrometría de masas, en este caso las pruebas determinantes para corroborar la obtención del producto son; el espectro de RMN ^1H (Figura 5.8), en el que se observa la desaparición de la señal de los hidroxilos primarios, reportada²³ en 4.5 ppm en DMSO- d_6 . En este espectro también se puede observar a 6.02 y 5.92 ppm dos singuletes que corresponden a los hidroxilos secundarios de la β -ciclodextrina, a 4.99 ppm se observa un singulete que integra para 1 H y que corresponde al hidrogeno anomérico. y finalmente a 3.65 ppm, 3.44 ppm y 3.27 ppm se observan las señales de los demás hidrógenos traslapadas, pero cuya asignación se llevó a cabo según lo reportado²³ para terminar de corroborar la obtención de **6**, se presenta el espectro de masas por MALDI-TOF (Figura 5.9), donde se observa un pico en 1926.97m/z que corresponde al $[\text{M} + \text{Na}]^+$.

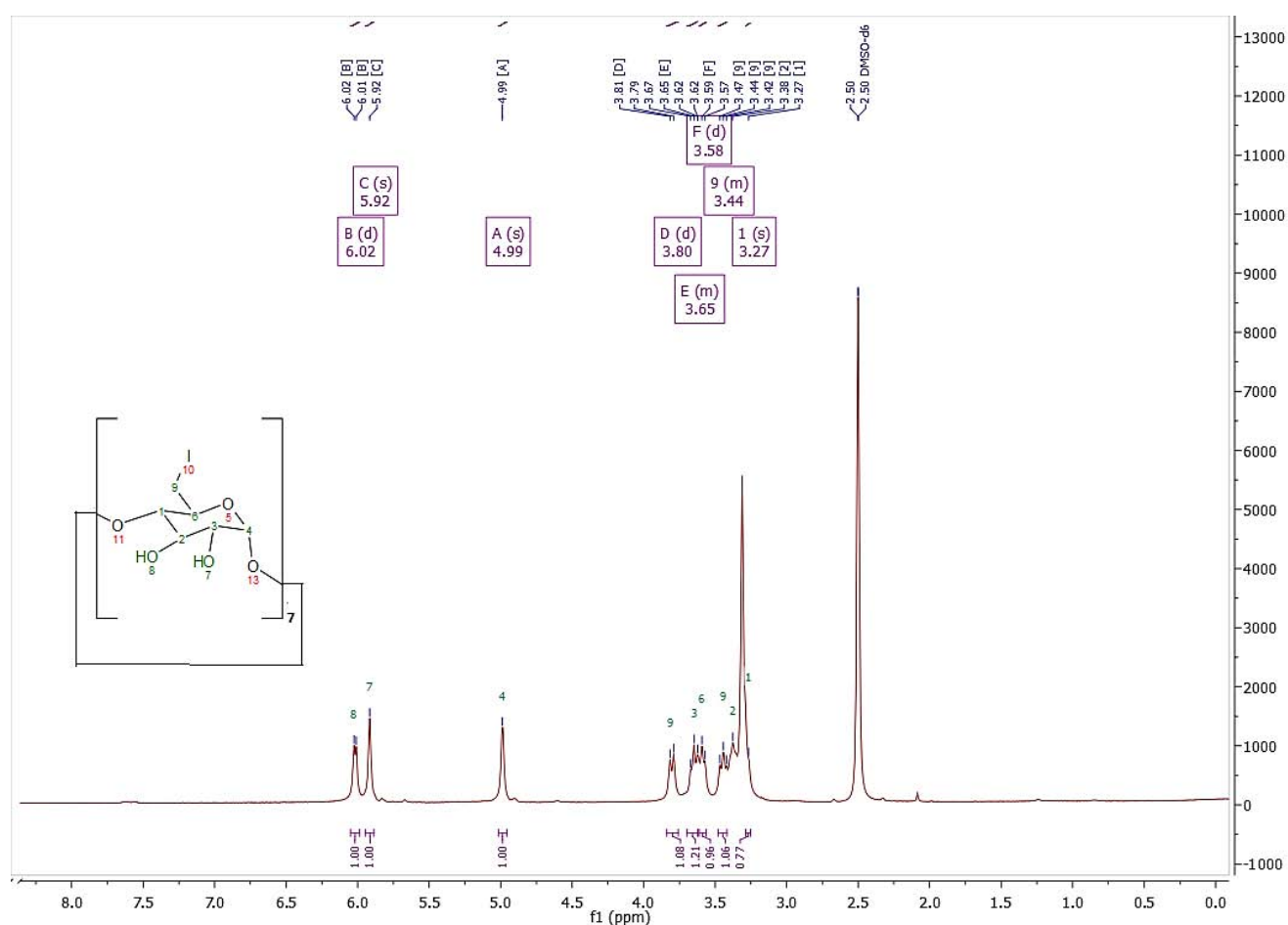


Figura 5.8 Espectro RMN ^1H en DMSO- d_6 de **6**

Una vez caracterizado este producto se procedió a la síntesis del producto **7**, En el espectro de RMN de ^1H de este producto se pueden observar dos singuletes a 5.89 ppm y 5.75 ppm que integran para 1 H cada una y que corresponden a los hidrógenos de los hidroxilos secundarios de la β -ciclodextrina.

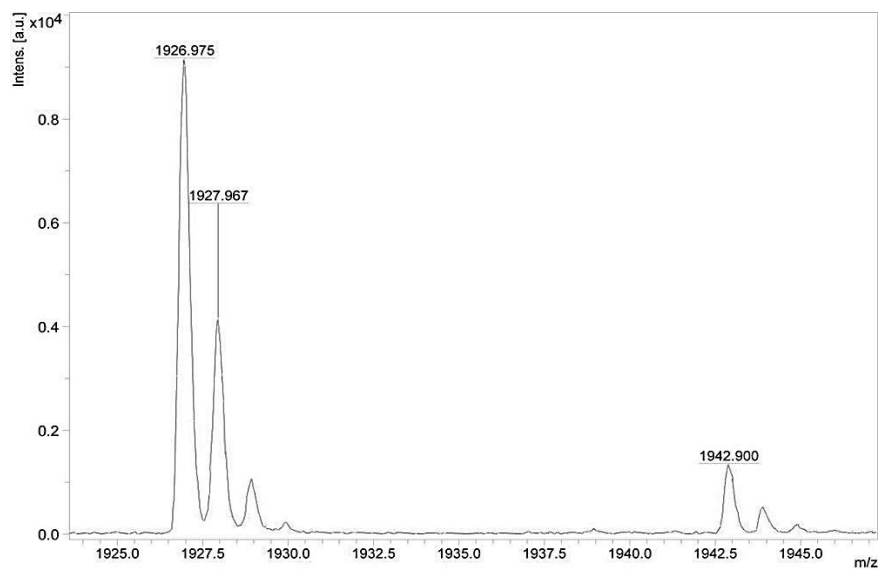


Figura 5.9. Espectro de masas por MALDI-TOF de **6**

También a 4.92 ppm se observa un singulete que corresponde al hidrogeno anomérico, a 3.75 ppm se observa una señal ancha donde se encuentran traslapadas las señales correspondientes a al CH(6) y al CH₂(9) a 3.59 ppm se observa una señal donde se encuentran traslapadas las señales del grupo CH(3) y del CH₂(9) finalmente a 3.36 se observa una señal ancha donde se encuentra traslapada la señal que corresponde a los grupos CH (1 y 2)

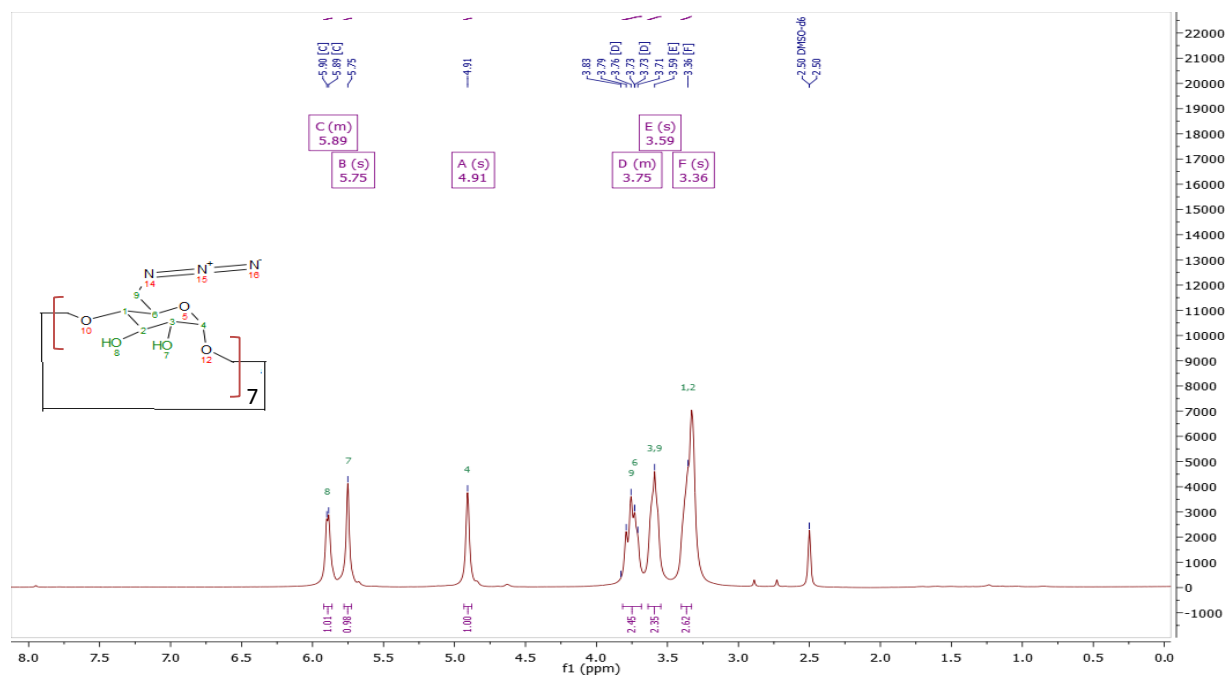


Figura 5.10. . Espectro de RMN ¹H en DMSO-d₆ de **7**

En el FT-IR (Figura 5.8) de este producto se puede ver la aparición de una banda a 2097 cm^{-1} que corresponde a la vibración del enlace triple del grupo azida. El producto también fue caracterizado por RMN ^1H y ^{13}C y por espectrometría de masas con MALDI-TOF.

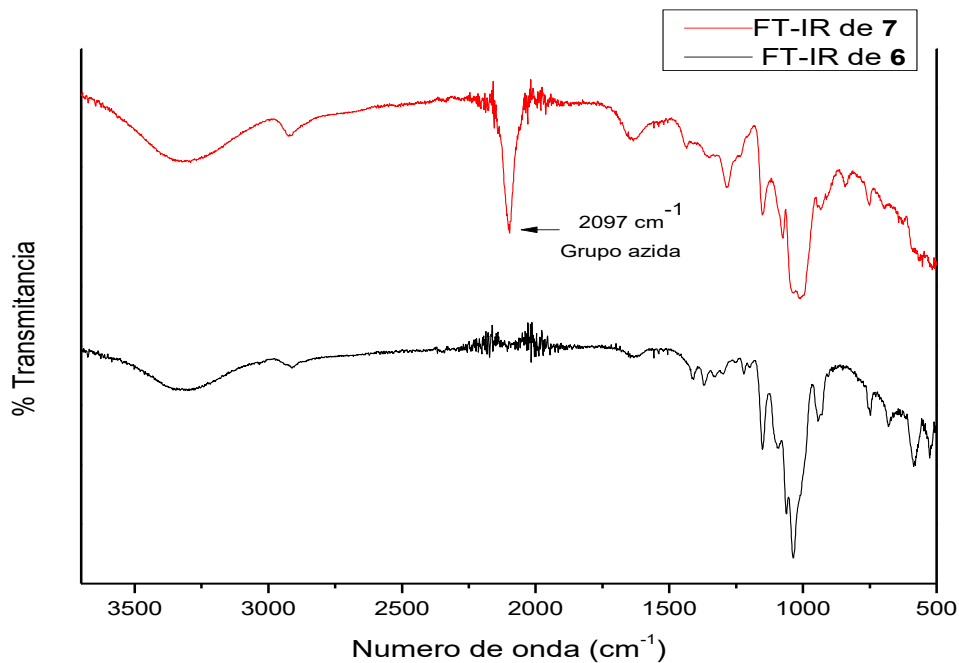
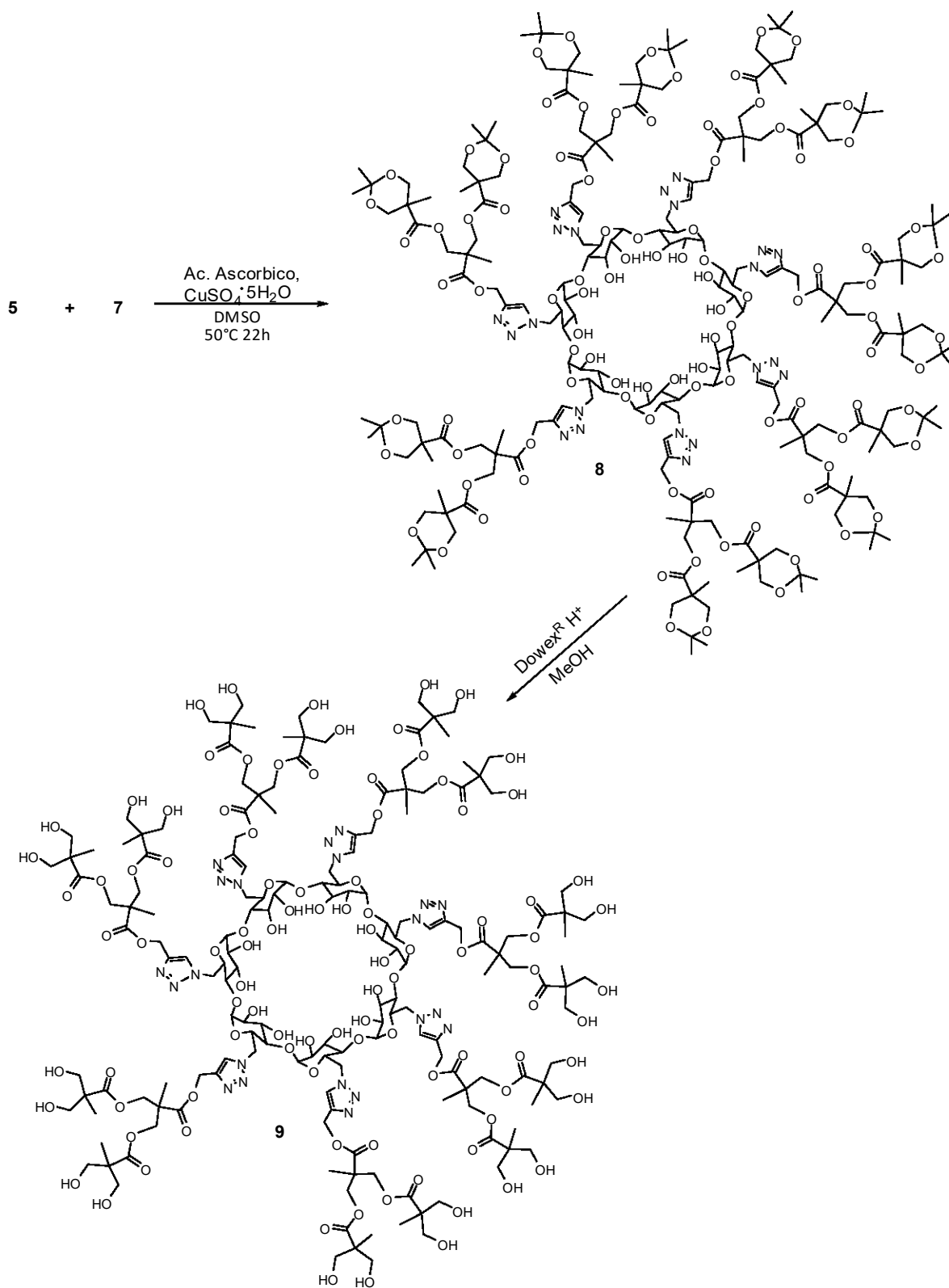


Figura 5.11. Comparación de los espectros de FT-IR de **6** y **7**

5.1.1 Reacción "click"

Esquema 5.1. Síntesis del derivado β -ciclodextrina-[G2]-OH (9)

La Reacción utilizada para la obtención del compuesto **8** fue la cicloadición azida-alquino catalizada por cobre (CAACu), la cual es una de las reacciones más representativas del concepto de química “click”. Al utilizar Cu(I) como catalizador se presenta la dificultad de su inestabilidad; este problema se soluciona generando el Cu (I) in-situ a partir de CuSO₄ y ácido ascórbico como agente reductor, en condiciones de atmosfera inerte. La reacción resultó altamente eficiente y selectiva, permitiendo obtener el compuesto **8** con un 91% de rendimiento. El producto fue caracterizado por FT-IR, RMN¹³C y ¹H y MALDI-TOF. En el espectro de RMN de ¹H se puede observar a 7.95 ppm, la presencia de una señal que integra para 7 H y que corresponde a los hidrógenos de los anillos de 1,2,3-triazol, a 6.01 y 5.90 ppm, se observan dos singuletes que corresponden a los grupos hidroxilo secundarios del anillo de β-ciclodextrina, a 5.01 ppm se puede observar una señal ancha donde se traslapan la señal correspondiente al hidrogeno anomérico y al CH₂ del dendrón (53), en 4.48 y 4.32 ppm se observan dos señales que corresponden al CH₂ unido al N del anillo de triazol, a 4.18 ppm se observa una señal que corresponde a los grupos CH₂ de la primera generación del dendrón, a 3.95 y 3.57 ppm, se observan dos dobletes que corresponden a los grupos CH₂ de la segunda generación del dendrón mientras que a 3.68, 3.41 y 3.25 ppm se observan tres señales que corresponden a los hidrógenos 7, (5 y 12) y 9 respectivamente, finalmente a 1.33 y 1.20 ppm se observan dos singuletes que corresponden a los CH₃ del grupo protector cetil, finalmente se observan dos singuletes a 1.14 y 0.98 ppm que corresponden a los CH₃ de la segunda y primera generación respectivamente.

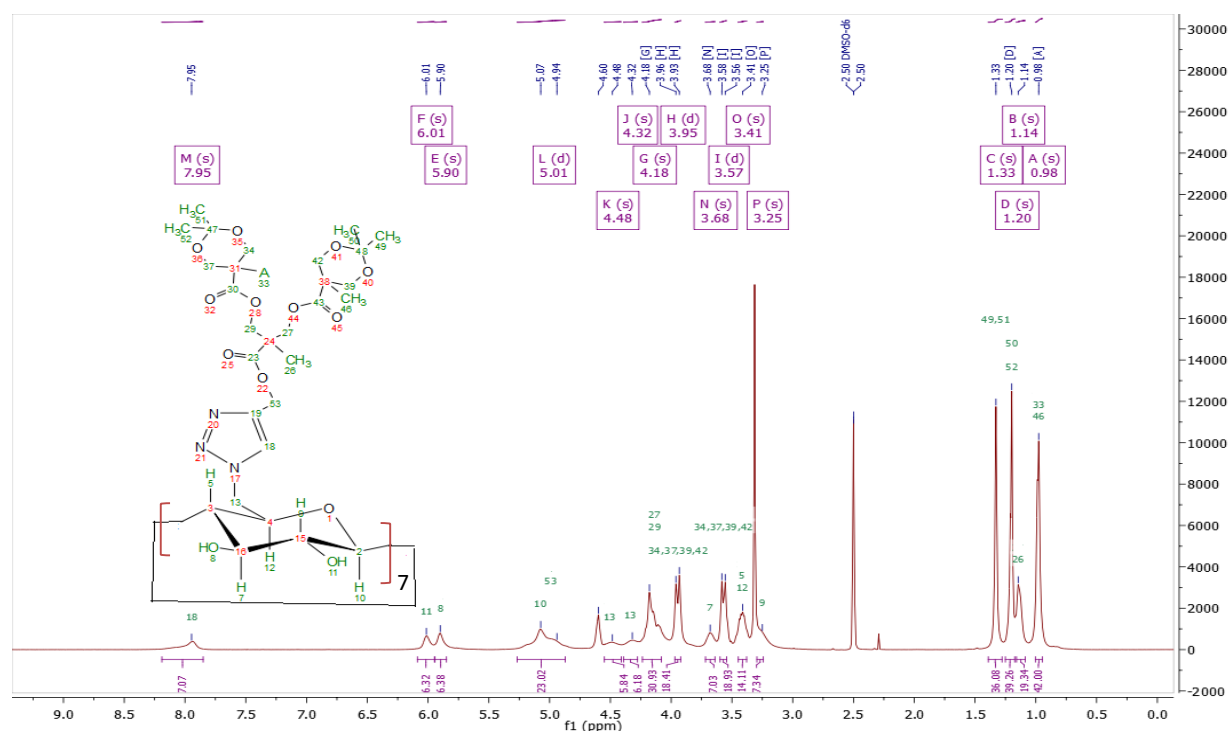


Figura 5.12. . Espectro de RMN ¹H en DMSO-d₆ de **8**

En el espectro de RMN de $^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ (figura 5.13) en donde a 173.9 y 173.0 ppm se observa las señales correspondientes a los grupos carbonilo de primera y segunda generación respectivamente, a 141.2 y 126.2 ppm se observan las señales de los carbonos del triazol (18 y 19 respectivamente), en 101.68 ppm se observa una señal correspondiente a los carbonos cuaternarios del grupo protector cetil, mientras que a 97.32 ppm se observa la señal correspondiente a los carbonos anoméricos de las unidades de glucosa, mientras que a 17.0 y 16.6 ppm se encuentran las señales correspondientes a las carbonos de la primer y segunda generación respectivamente.

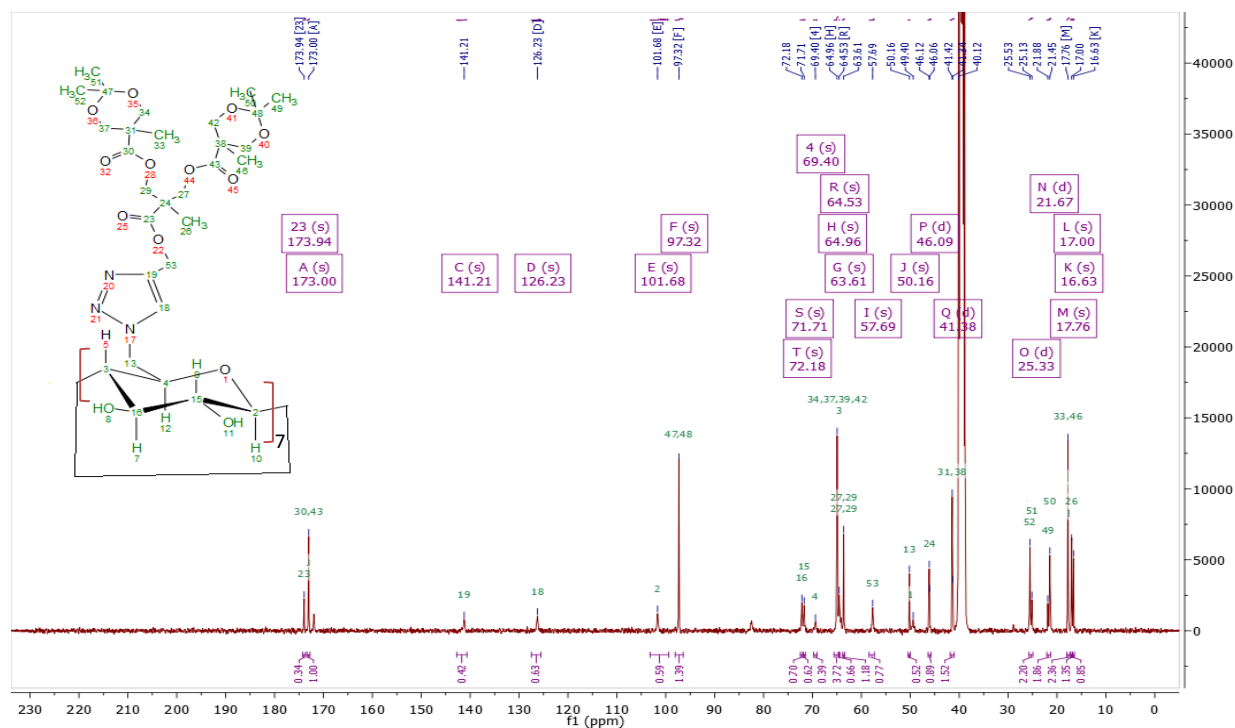


Figura 5.13. . Espectro de RMN $^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ en DMSO- d_6 de **8**

La espectrometría de masas es una de las pruebas determinantes para corroborar la obtención de una molécula de elevado peso molecular, como lo es **8**, en este caso en el espectro se observa un patrón isotópico cuyo pico mas intenso se encuentra en 4727.95 m/z que corresponde al $[\text{M} + \text{Na}]^+$ en 4711.97 m/z se observa un pico que corresponde al $[\text{M}-\text{CH}_3 + \text{Na}]^+$ finalmente en 4687 m/z se observa un pico que corresponde al $[\text{M}-\text{cet} + \text{Na}]^+$ donde “cet” es el grupo protector cetil (figura 5.10).

Una vez caracterizado el producto **8**, se llevó a cabo la desprotección de los grupos hidroxilo, empleando la resina acida DOWEX 50WX2 en metanol, para obtener el producto objetivo (molécula **9**) cuantitativamente.

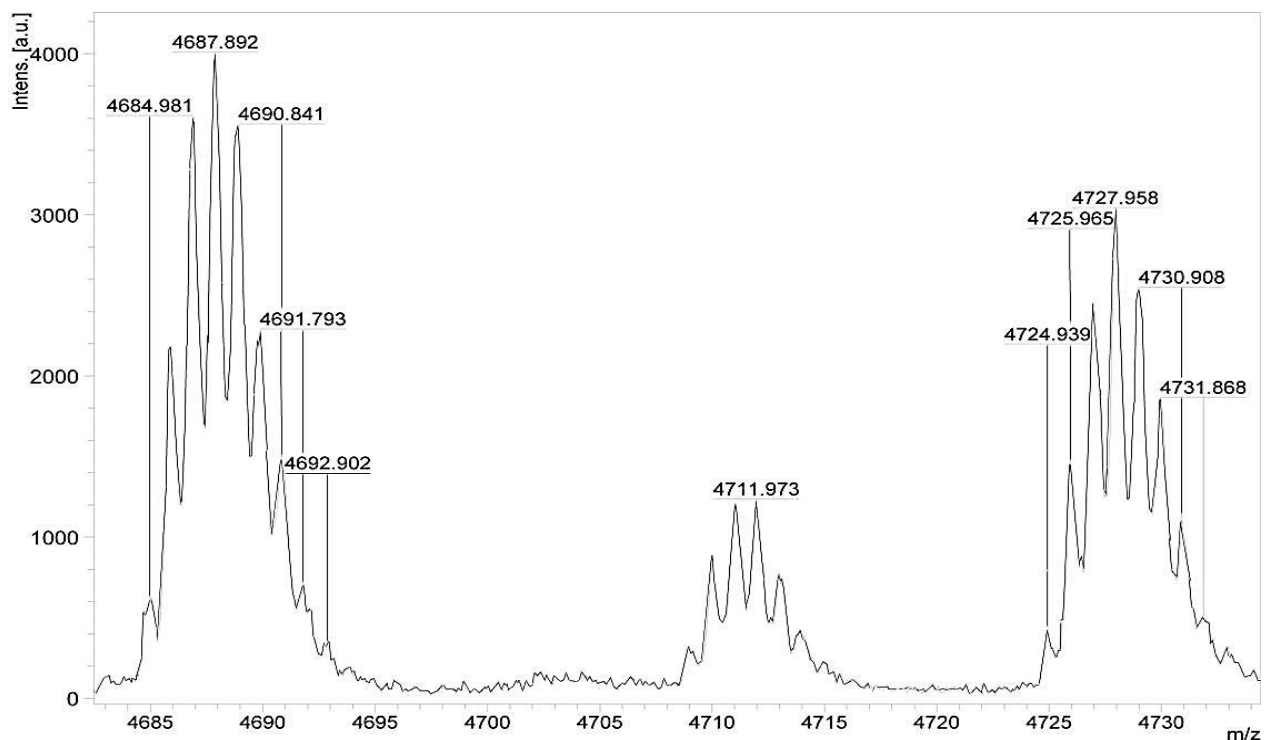


Figura 5.14. Espectro de masas por MALDI-TOF de **8**.

En el espectro de RMN de ^1H , (Figura 5.15) se puede observar una señal a 7.93 ppm que corresponde al H de los anillos de triazol, mientras que a 5.99 y 5.89 ppm se observan dos señales que corresponden a los hidroxilos secundarios de la β -ciclodextrina, a 5.06 ppm se observa una señal que corresponde al hidrogeno anomérico de cada una de las unidades de glucosa, mientras que a 4.96 se observa una señal ancha que corresponde al grupo CH_2 del dendrón unido al triazol (53), es de destacar la señal intensa que se observa en 4.62 la cual es un triplete que corresponde a los grupos hidroxilo los cuales son el resultado de la desprotección de los dendrones. A 4.52 y 4.33 ppm se observan dos señales que corresponden a los hidrógenos del grupo CH_2 unido al átomo de N del triazol, mientras que a 4.09 ppm se observa una señal que corresponde a los CH_2 de la primera generación de los dendrones y a 3.42 una señal que corresponde a los grupos CH_2 de la segunda generación de los dendrones. Finalmente a 1.11 y 0.98 ppm tenemos los hidrógenos que corresponden a los grupos CH_3 de primera y segunda generación respectivamente.

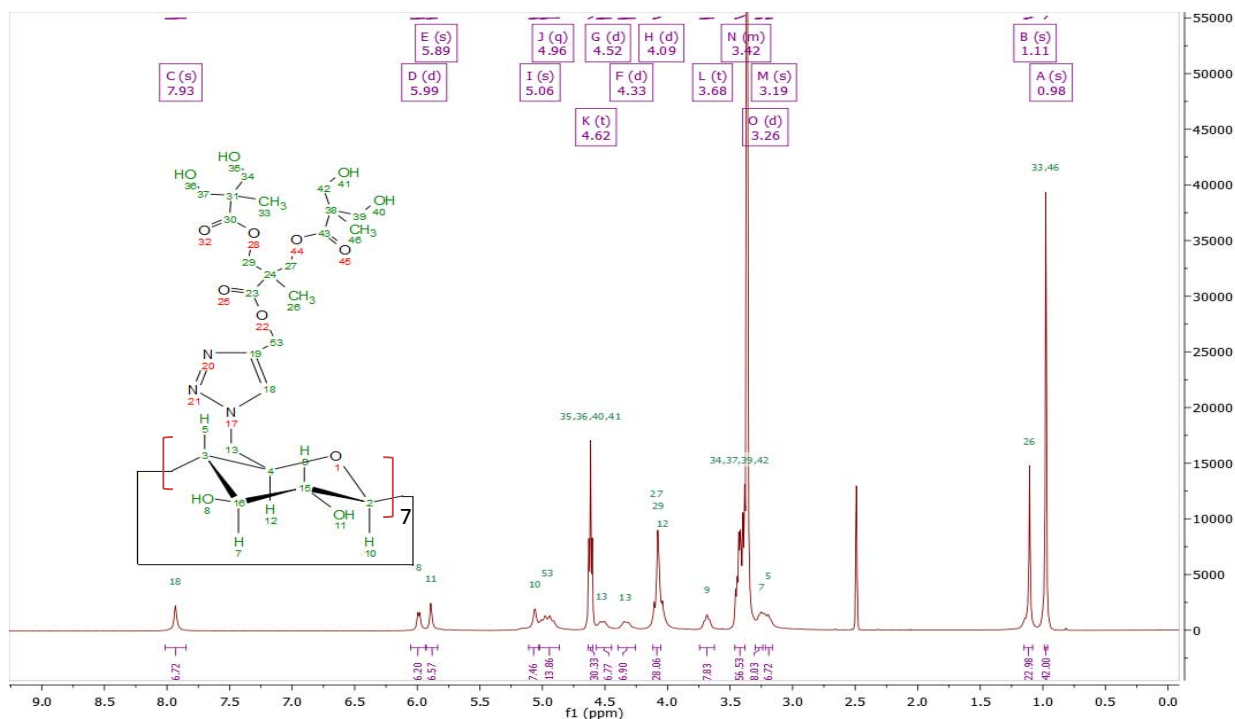


Figura 5.15. . Espectro de RMN ^1H en DMSO-d_6 de

En el espectro de RMN $^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ se pueden observar a 173.9 y 172.08 ppm dos señales que corresponden a los carbonos de los grupos carbonilo de segunda y primera generación respectivamente, a 141.1 y 126.4 ppm se observan dos señales correspondientes al anillo de triazol, a 101.3 se puede observar una señal más que corresponde al carbono anomérico de las unidades de glucosa, a 82.4 ppm se observa una señal que fue asignada al carbono (53) a 69.34 ppm se encuentra una señal asignada al carbono (4) a 64.4 y 63.6 se observan dos señales que corresponden a los grupos CH_2 de la primera y segunda generación respectivamente, a 57.6 ppm hay una señal que fue asignada al carbono (3) a 50.18 y 46.03 ppm se presentan dos señales, que corresponden a los carbonos terciarios de la segunda y primera generación respectivamente, finalmente a 17.06 y 16.61 ppm se observan dos señales que corresponden a los grupos CH_3 de primera y segunda generación respectivamente.

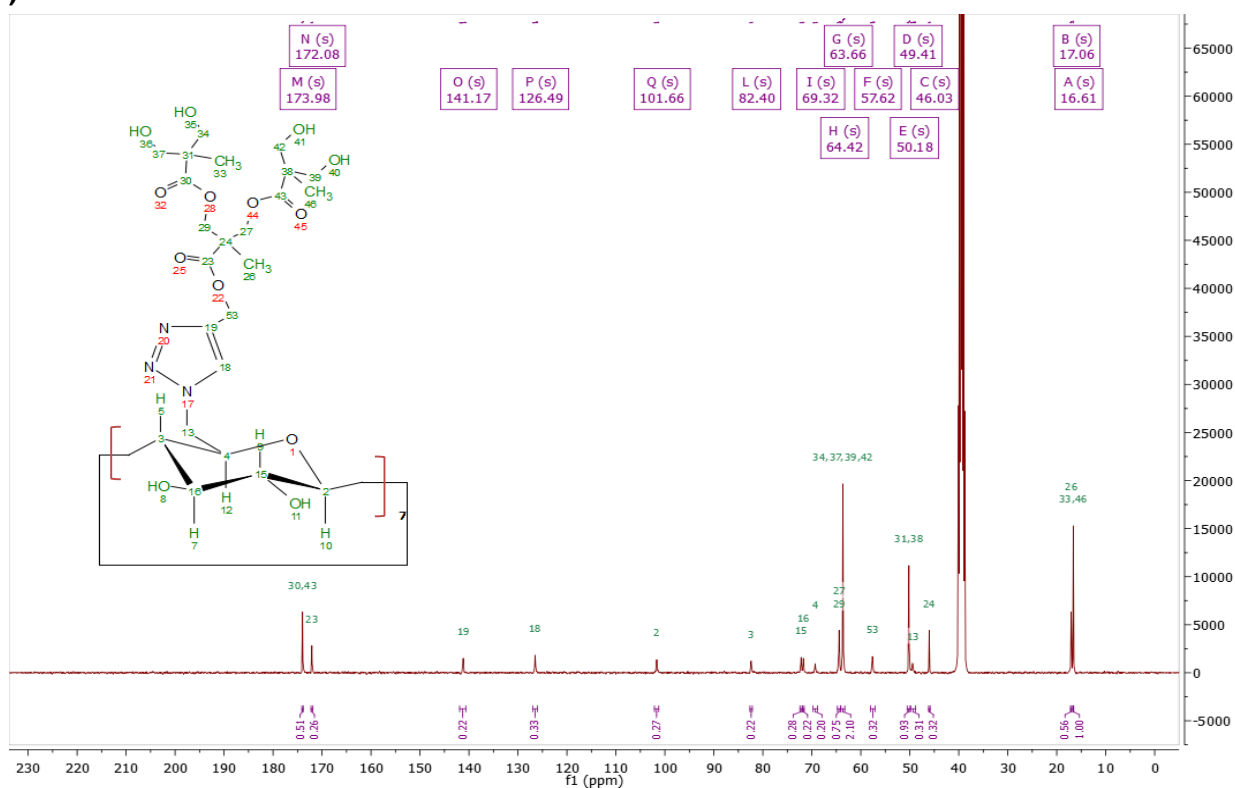


Figura 5.16. . Espectro de RMN ^{13}C $\{^1\text{H}\}$ en DMSO-d_6 de **9**

De nuevo la técnica concluyente para la obtención de este producto es la espectrometría de masas por MALDI-TOF (Figura 5.11), en el que se observa un pico en 4145 m/z que corresponde al $[\text{M}]^+$, y en 4208 se observa otro pico a 4208.61 m/z , que puede corresponder al $[\text{M}+\text{K}+\text{CH}_3\text{OH}]^+$. Por otro lado, en la comparación de los espectros de RMN ^1H de **8** y **9** (Figura 5.12) se observa la desaparición de las señales a 1.23 y 1.34 ppm correspondientes al grupo protector cetal (espectro B) y la aparición de una señal a 4.62 ppm que corresponde a los hidroxilos terminales de los dendrones de segunda generación.

ANALISIS DE RESULTADOS

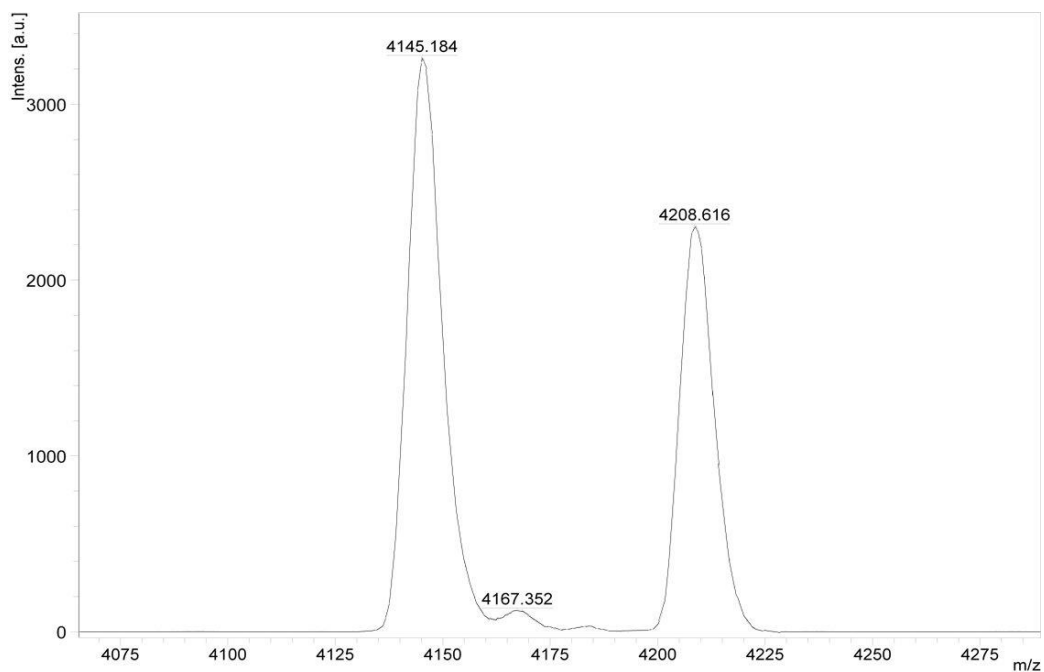


Figura 5.17. Espectro de MALDI-TOF de **9**

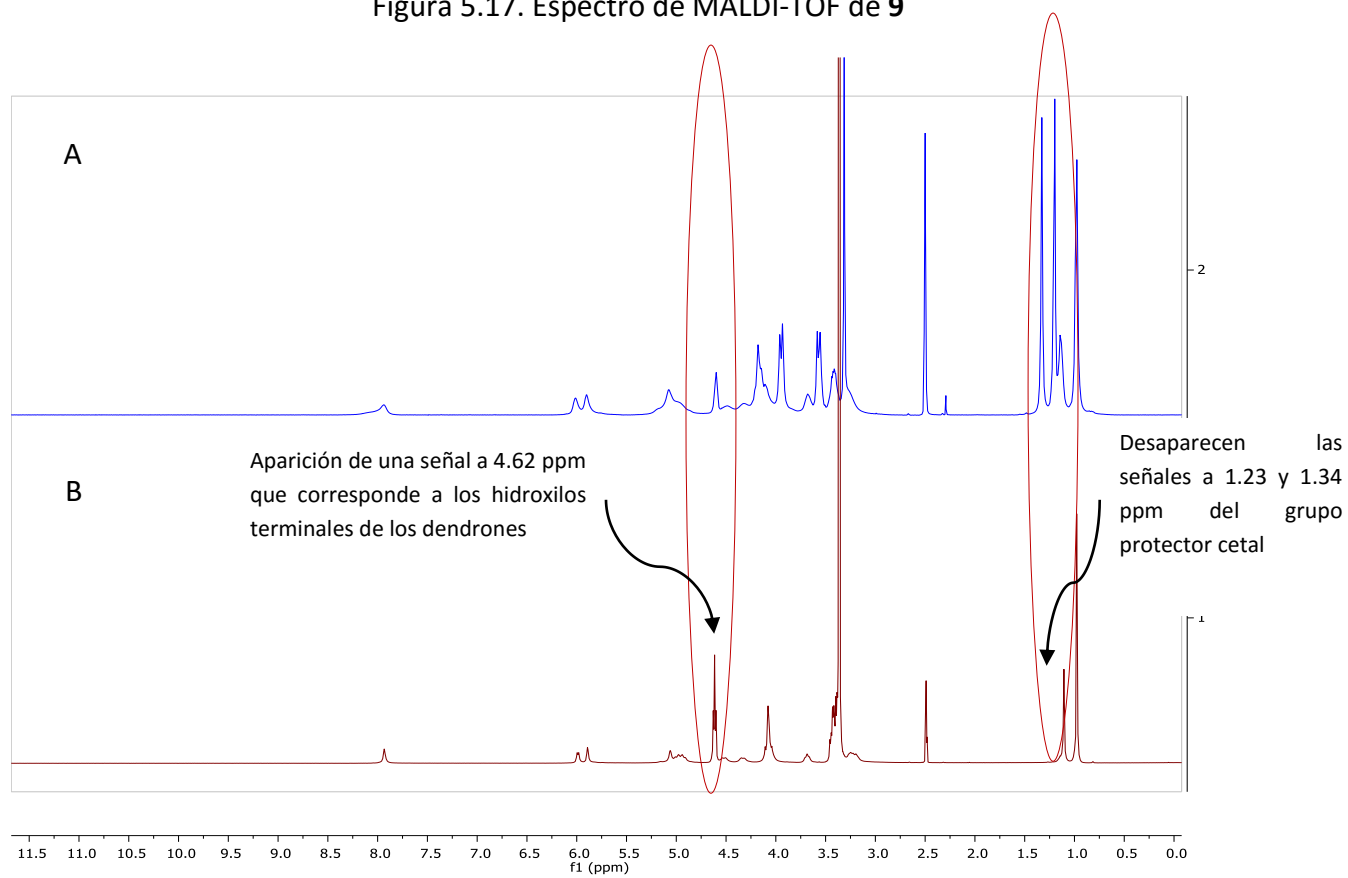


Figura 5.18. Comparación de los espectros de RMN ¹H en CDCl₃ de A) **8**, B) **9**

5.2 Determinación de la solubilidad de los derivados de β -ciclodextrina.

Se determinó la solubilidad de dos derivados de β -ciclodextrina, uno sintetizado en este trabajo (ciclodextrina-[G2]-OH; **9**), mediante el esquema de síntesis mostrado anteriormente (Esquema de reacción, página 24), y el otro sintetizado en el grupo de investigación dirigido por la Dra. Yareli Rojas de la Facultad de Química (β -ciclodextrina-PEG) esto se realizó con fines comparativos. Entre la estructura ramificada del derivado **9** y la arquitectura lineal del derivado β -ciclodextrina-PEG. Este último compuesto fue completamente caracterizado por RMN de ^1H y ^{13}C , espectrometría de masas (MALDI-TOF) y FT-IR.

En los diagramas de solubilidad mostrados en la figura 5.14 se observa que el derivado β -ciclodextrina-[G2]-OH (**9**) tiene una solubilidad mucho mayor al derivado β -ciclodextrina-PEG.

Como se observa en estos diagramas, a una concentración de 148 mM aún no se presenta un punto de saturación en el caso del compuesto **9** (diagrama B), mientras que para el compuesto β -ciclodextrina-PEG, la saturación ocurre a una concentración alrededor de 42 mM (diagrama A). Es de destacar que la solubilidad de **9** (β -ciclodextrina-[G2]-OH) es al menos 9 veces mayor a la reportada para la β -ciclodextrina (16mM).

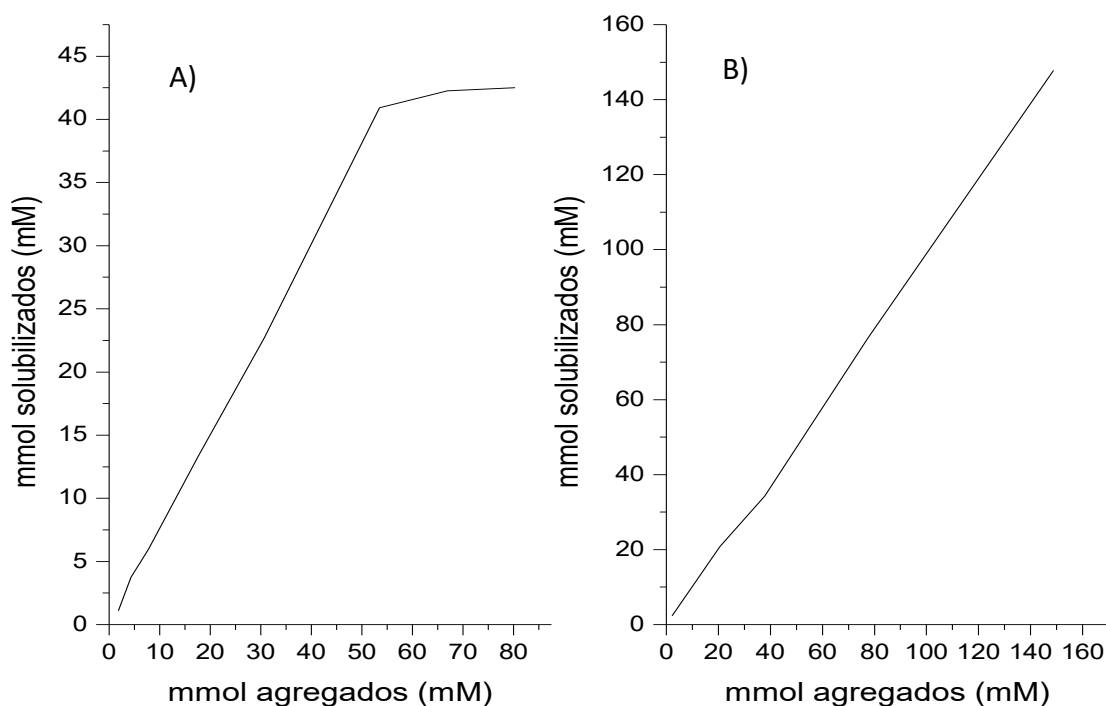


Figura 5.14. Diagramas de solubilidad de A) β -ciclodextrina-PEG y B) β -Ciclodextrina-[G2]-OH

Esta diferencia de solubilidades puede ser explicada en función del gran número de grupos hidroxilo que tiene el derivado **9** en la periferia (figura 5.13 B), en comparación con β -

ciclodextrina-PEG (figura 5.13 A). Al analizar las estructuras de ambos derivados de β -ciclodextrina se puede observar que el balance hidrofílico-hidrofóbico (número de grupos polares/número de grupos no polares) presente en **9** podría ser el responsable de la elevada solubilidad de este derivado, en comparación con β -ciclodextrina-PEG.

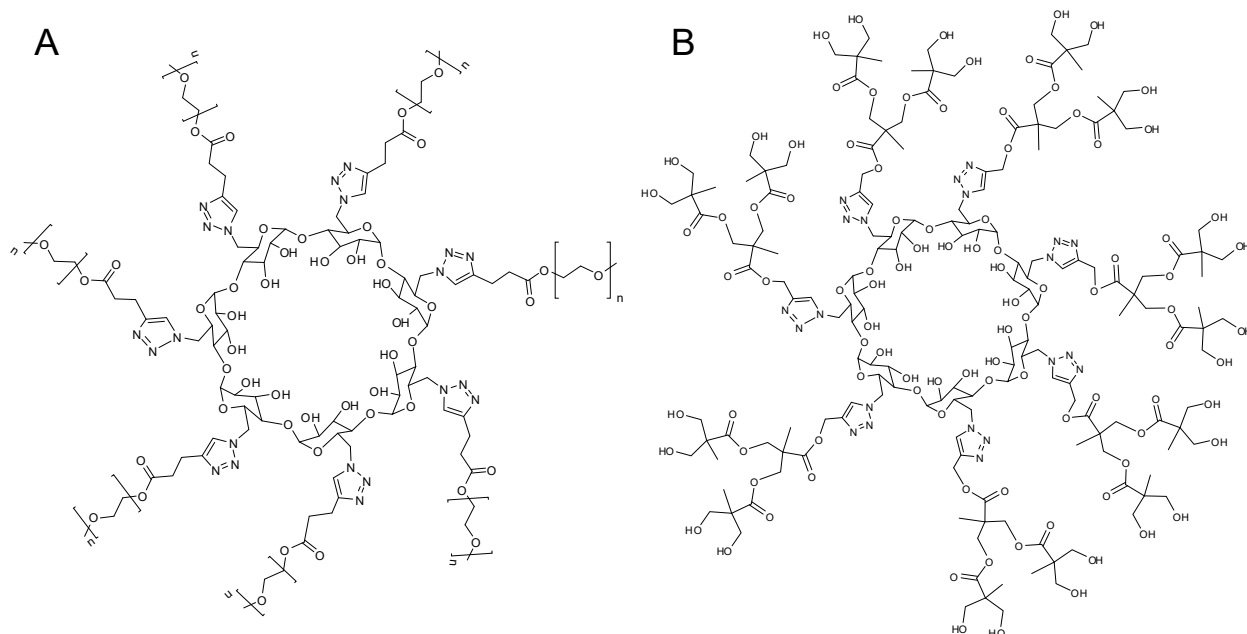


Figura 5.13. Estructuras de A) β -ciclodextrina-PEG y B) β -ciclodextrina-[G2]-OH

5.3 Formación de complejos de inclusión de derivados de β -ciclodextrina-albendazol

Como se describe en la sección de metodología, se siguió un protocolo estándar para formar complejos de inclusión entre el albendazol (fármaco antiparasitario) y los derivados de β -ciclodextrina, en proporciones equimolares de huésped y anfitrión. Para la cuantificación de fármaco encapsulado, se realizó una curva de calibración de éste a diferentes concentraciones, mediante espectroscopia UV-vis (ver Anexo 2).

Los complejos de inclusión elaborados fueron caracterizados por espectroscopia UV-vis, estos espectros se presentan en la Figura 5.15. El espectro A corresponde al albendazol en el cual se observa un máximo a ($\lambda = 297$ nm), el espectro B corresponde al complejo β -ciclodextrina-albendazol, y dado que la β -ciclodextrina no absorbe en el UV-vis, la absorbancia observada es debida al albendazol encapsulado, con un ligero corrimiento en el máximo ($\lambda = 295$ nm), que corresponde a una concentración de aproximadamente 0.22 mM,. Los espectros B y C corresponden a los complejos de los derivados de β -ciclodextrina con albendazol; (β -ciclodextrina-[G2]-OH y β -ciclodextrina-PEG respectivamente); en ellos no se observa la banda a

297 nm correspondiente al albendazol, por lo que se concluye que el fármaco no pudo ser encapsulado en las mismas condiciones que con la β -ciclodextrina. No obstante que en el espectro D se observa una banda en la región de absorción del fármaco, se corroboró por triplicado que esta banda en aproximadamente 280 nm corresponde a una transición propia del derivado β -ciclodextrina-PEG.

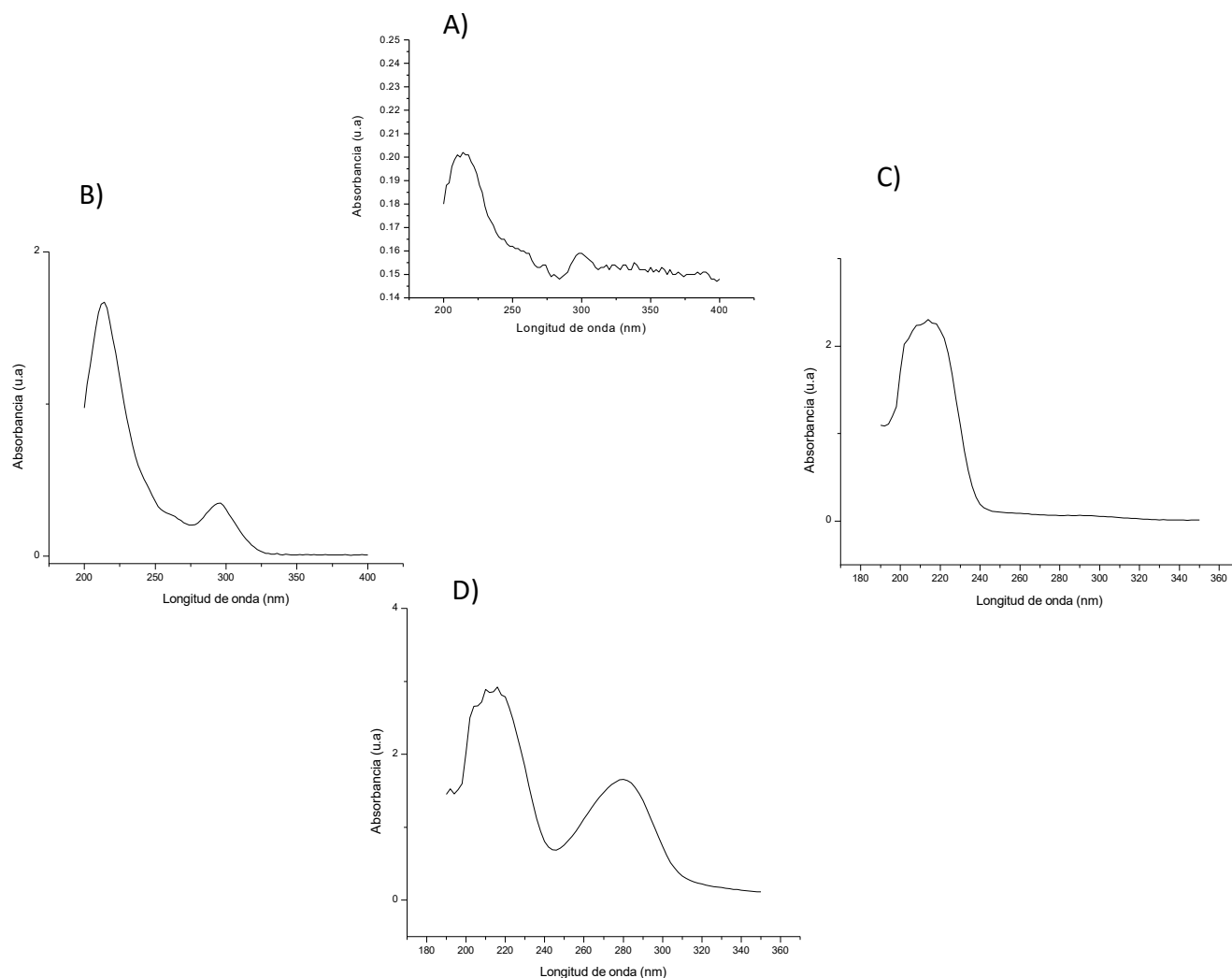


Figura 5.15. Espectros UV-vis de A) albendazol B) β -ciclodextrina-albendazol C) β -ciclodextrina [G2]-OH-albendazol D) β -ciclodextrina-PEG-albendazol.

A pesar de que ambos derivados: β -ciclodextrina [G2]-OH-y β -ciclodextrina-PEG tienen el mismo grupo cromóforo (anillo 1, 2, 3-triazol) responsable de la absorción en la región UV, la banda adicional observada en el espectro D, se propone a manera de hipótesis, que esto podría deberse a una interacción de apilamiento π - π , entre los anillos de 1,2,3-triazol de las moléculas de β -ciclodextrina-PEG, fenómeno que no se presenta en la β -ciclodextrina [G2]-OH, seguramente por el impedimento estérico debido al mayor volumen de los dendrones. Un

argumento a favor de la explicación de un apilamiento entre moléculas de β -ciclodextrina-PEG es la presencia en el DSC de una transición cristalina, como se mostrará más adelante. A pesar de esto no se descarta que la banda pueda deberse a algún contaminante, esto deberá ser corroborado con más experimentos.

El hecho de que el encapsulamiento no haya ocurrido entre el albendazol y los derivados sintetizados en las mismas condiciones que para la β -ciclodextrina, no descarta a estos derivados como potenciales acarreadores; ya que existen diversos protocolos para la formación de complejos de inclusión, especialmente dirigidos a sistemas macromoleculares más complejos como los aquí propuestos, en donde se involucra un mayor suministro de energía (por ejemplo ultrasonido), y que podrían ser posteriormente probados.

5.4 Mezclas físicas β -ciclodextrina-albendazol, y derivados de β -ciclodextrina-albendazol

Las mezclas físicas fueron caracterizadas por calorimetría diferencial de barrido (DSC), se escogió esta técnica debido a que con ella se puede determinar el encapsulamiento del albendazol, al observar la desaparición de la curva correspondiente a su punto de fusión (207-210 °C). En las figuras 5.16 a 5.18 se muestran los termogramas de DSC para las mezclas físicas entre β -ciclodextrina-albendazol, β -ciclodextrina-[G2]-OH-albendazol y β -ciclodextrina-PEG-albendazol, así como los termogramas de sus respectivos componentes. En la figura 5.16 se aprecia que en la mezcla física se conservan las transiciones propias de cada componente (β -ciclodextrina y albendazol), lo que indica que este escenario de interacción no produce el encapsulamiento.

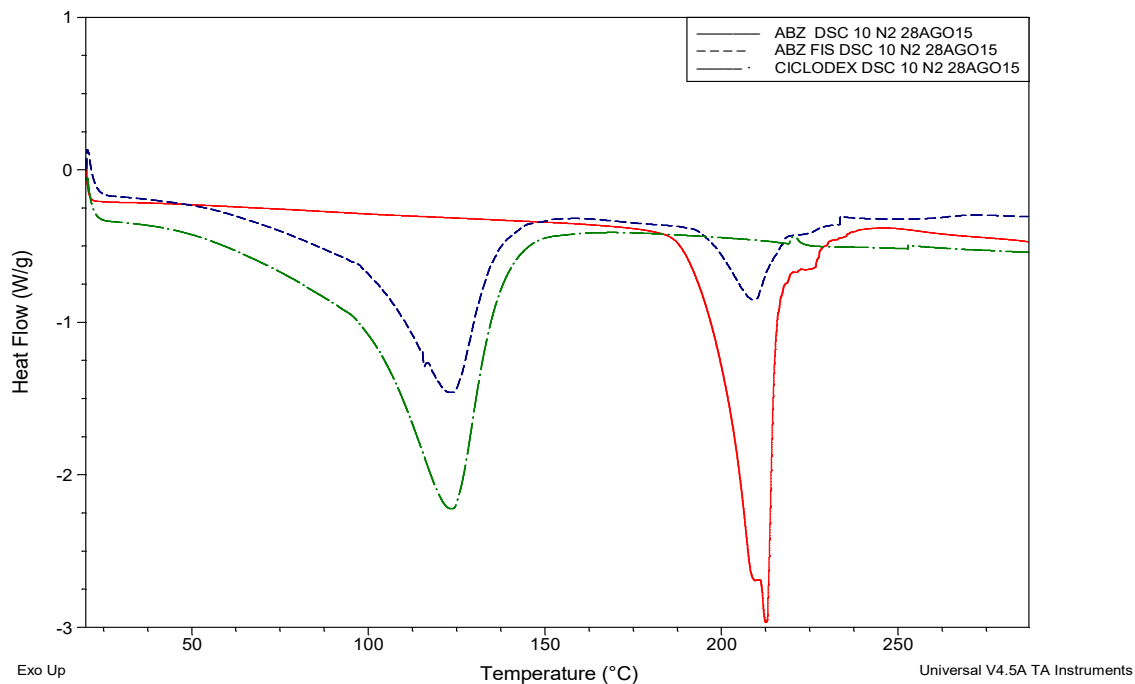


Figura 5.16. Termogramas de DSC de albendazol, β -ciclodextrina y β -ciclodextrina-albendazol (mezcla física)

En la figura 5.17 se puede observar un abatimiento del punto de fusión del albendazol, así como un corrimiento de la transición propia del derivado de β -ciclodextrina (β -ciclodextrina-[G2]-OH) arriba de 250°C. La comparación de termogramas en este caso podría sugerir una interacción superficial (y no de inclusión) entre el fármaco y el derivado.

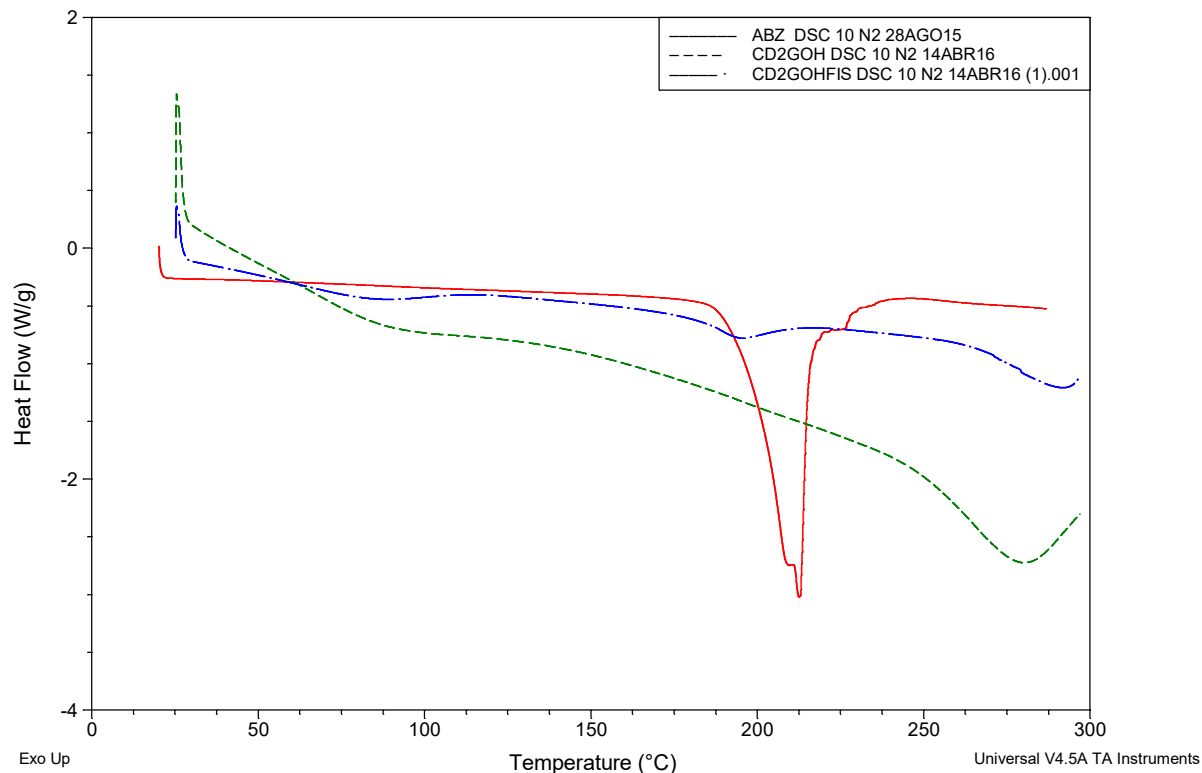


Figura 5.17. Termogramas de DSC de albendazol, β -ciclodextrina-[G2]-OH, β -ciclodextrina-[G2]-OH-albendazol (mezcla física)

En el caso de la mezcla física entre el albendazol y el derivado β -ciclodextrina-PEG (figura 5.18) se observa una transición exotérmica que puede asociarse a un evento de cristalización. Se sabe que, conforme aumenta la temperatura, un polímero se vuelve menos viscoso y en algún punto las moléculas pueden obtener suficiente libertad de movimiento para arreglarse espontáneamente en una forma cristalina. En este caso, lo observado por DSC se puede relacionar con el espectro de UV-vis para este derivado, en donde se propone un posible apilamiento de unidades de β -ciclodextrina, vía los anillos de triazol, resultando en arreglos ordenados, cuya formación podría ser facilitada por el relajamiento de las cadenas poliméricas de PEG presentes con el aumento de la temperatura.

Claramente, la transición correspondiente al albendazol (curva color rojo en la figura 5.18) no se observa en la mezcla física, debido a que la temperatura de cristalización ocurre en la misma región de esta transición.

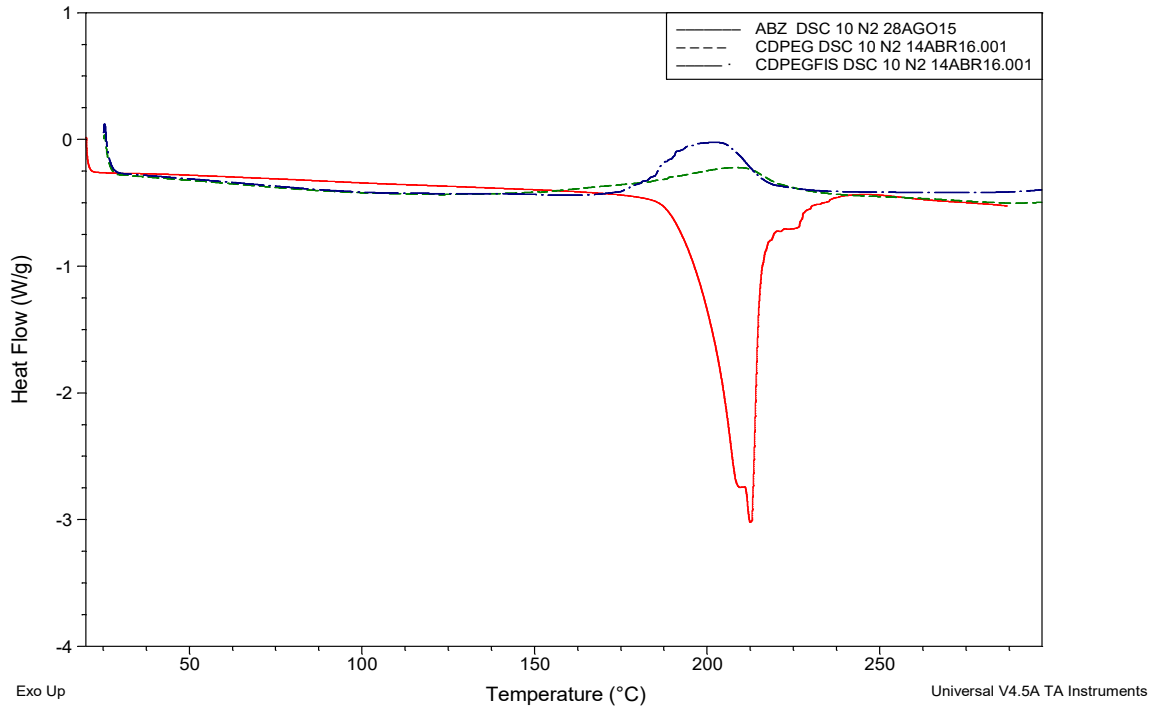


Figura 5.18. Termogramas de DSC de albendazol, β -ciclodextrina-PEG y β -ciclodextrina-PEG-albendazol

6. Conclusiones

Se logró la síntesis como ha sido reportado^{58,59} del dendrón de segunda generación de poli(éster) basado en Bis-MPA con punto focal alquino y de la heptakis(6-deoxi-6-azido)- β -ciclodextrina con terminales azida, que son los grupos funcionales necesarios para llevar a cabo la reacción “click”.

Se llevó a cabo la reacción de CAACu, representativa de la química “click”, la cual demostró ser altamente eficiente y selectiva para la síntesis del derivado β -ciclodextrina-[G2]-OH, el cual se obtuvo con altos rendimientos (91%).

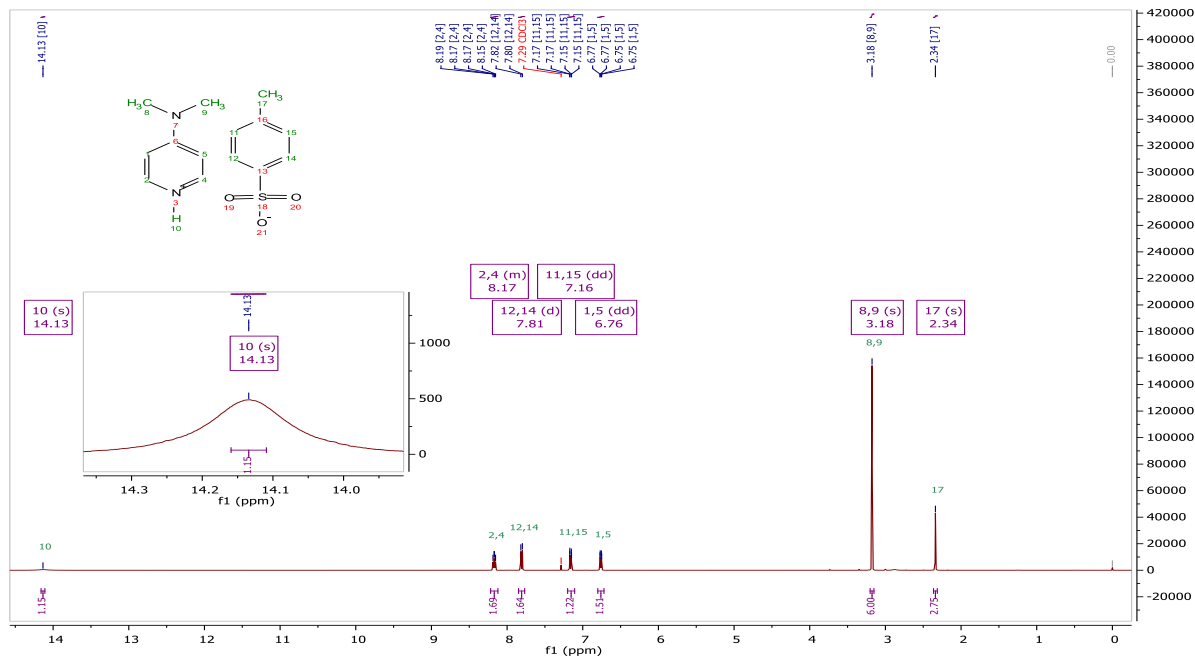
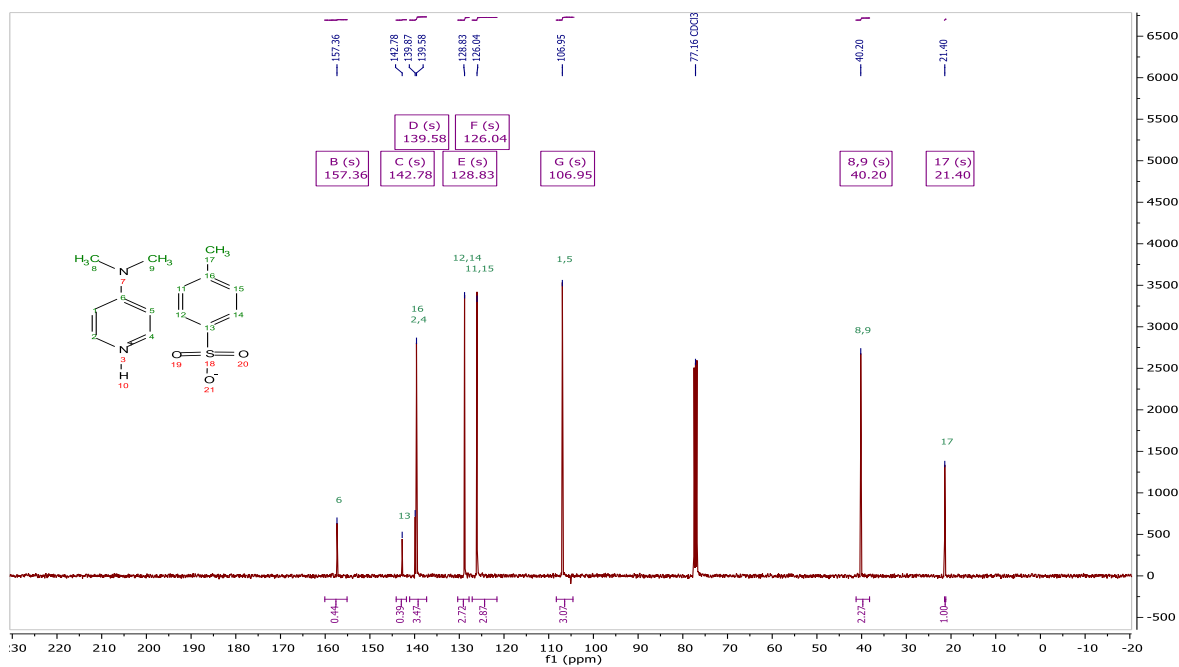
Se determinó la solubilidad de la β -ciclodextrina-[G2]-OH y la de otro derivado (la β -ciclodextrina-PEG) siendo la primera la más soluble, con una solubilidad mucho mayor a la β -ciclodextrina (al menos 9 veces mayor).

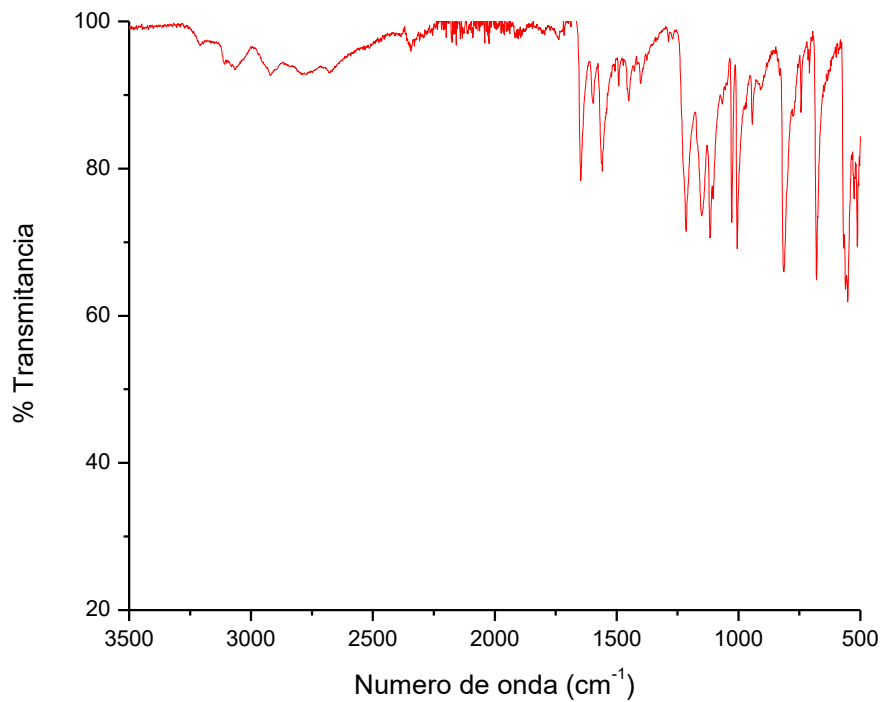
El protocolo de formación de complejos de inclusión permitió el encapsulamiento del albendazol en presencia de β -ciclodextrina, como ha sido reportado²⁵, el cual fue cuantificado por UV-vis mediante una curva de calibración; sin embargo, este protocolo no pudo extrapolarse a los derivados β -ciclodextrina-[G2]-OH y β -ciclodextrina-PEG, para los cuales no se observó la formación de complejos con albendazol, ni en solución ni en un escenario de mezclas físicas, presumiblemente debido a factores estéricos.

No obstante lo anterior, los derivados estudiados en el presente trabajo no deben ser descartados como potenciales acarreadores; ya que existen diversos protocolos para la formación de complejos de inclusión que podrían ser explorados.

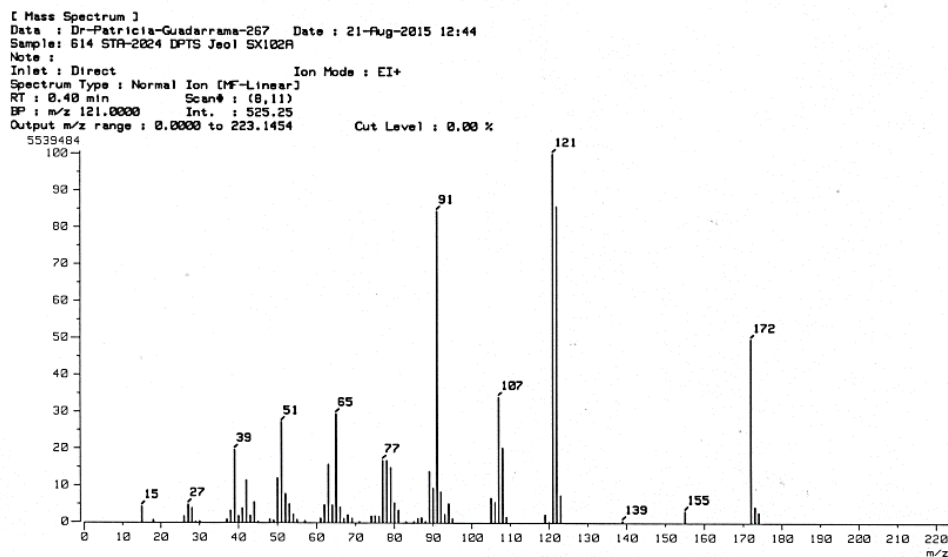
7. Anexo

Espectros del DPTS

Espectro de RMN ^1H del DPTS en CDCl_3 .Espectro de RMN ^{13}C del DPTS en CDCl_3 .

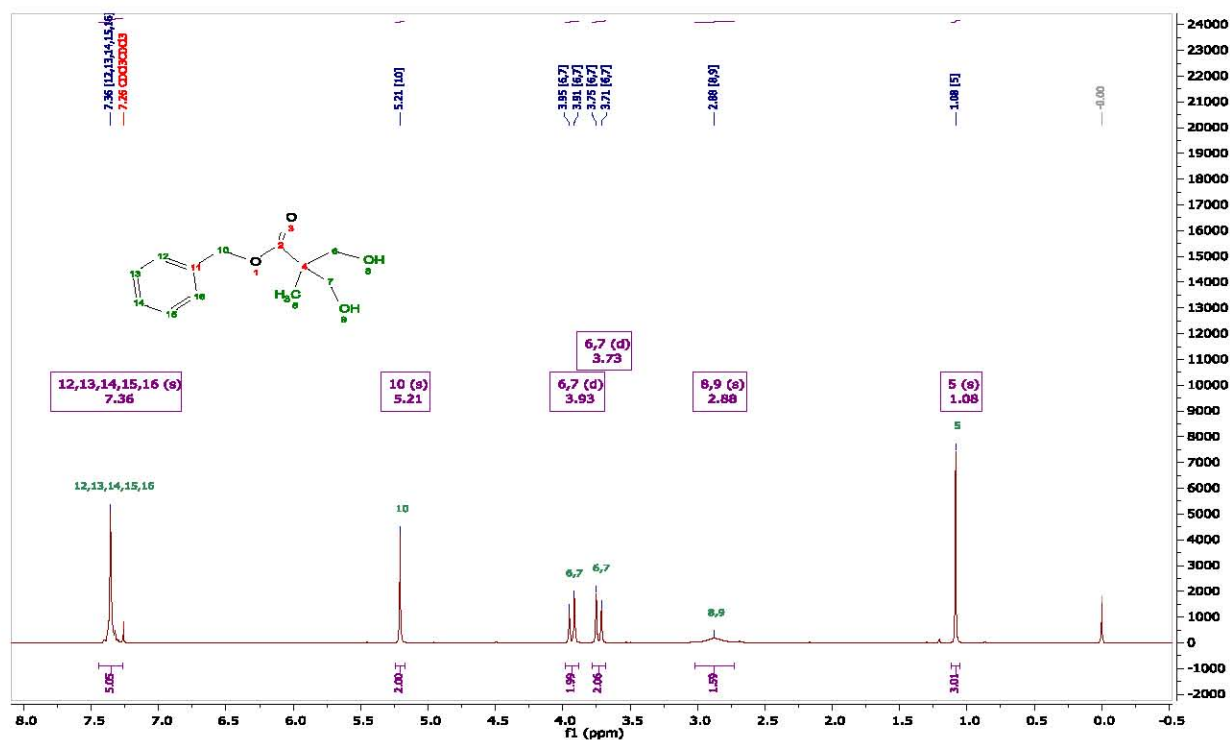
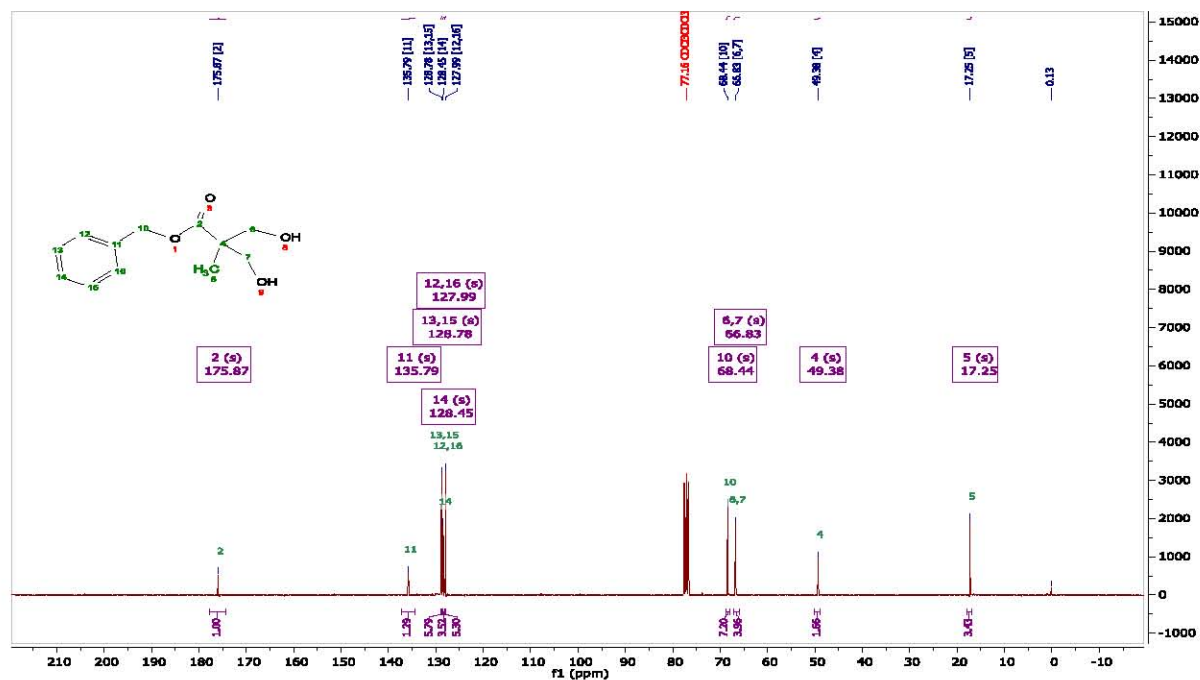


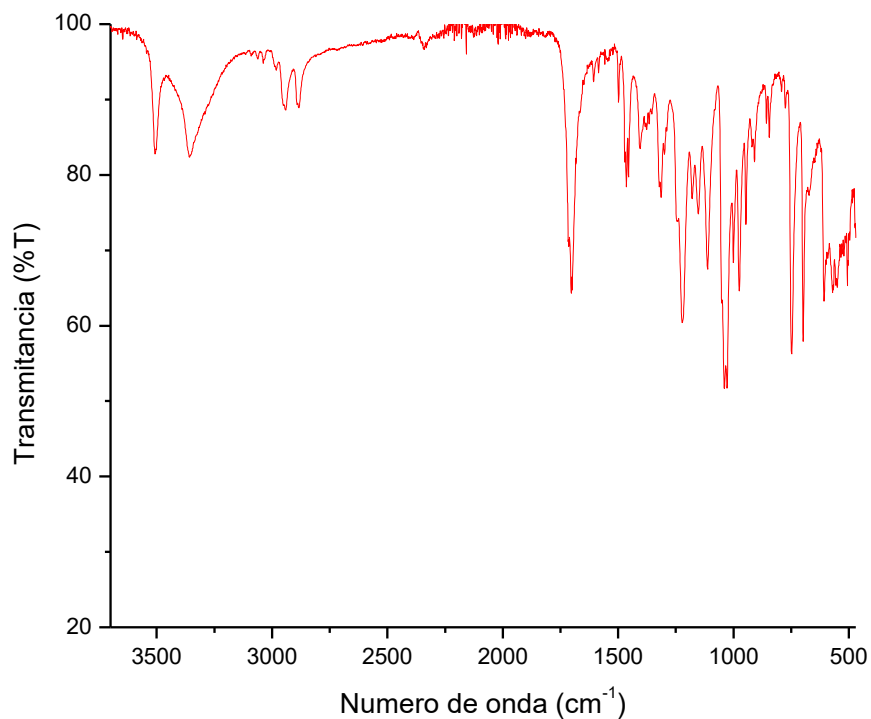
Espectro FT-IR del DPTS



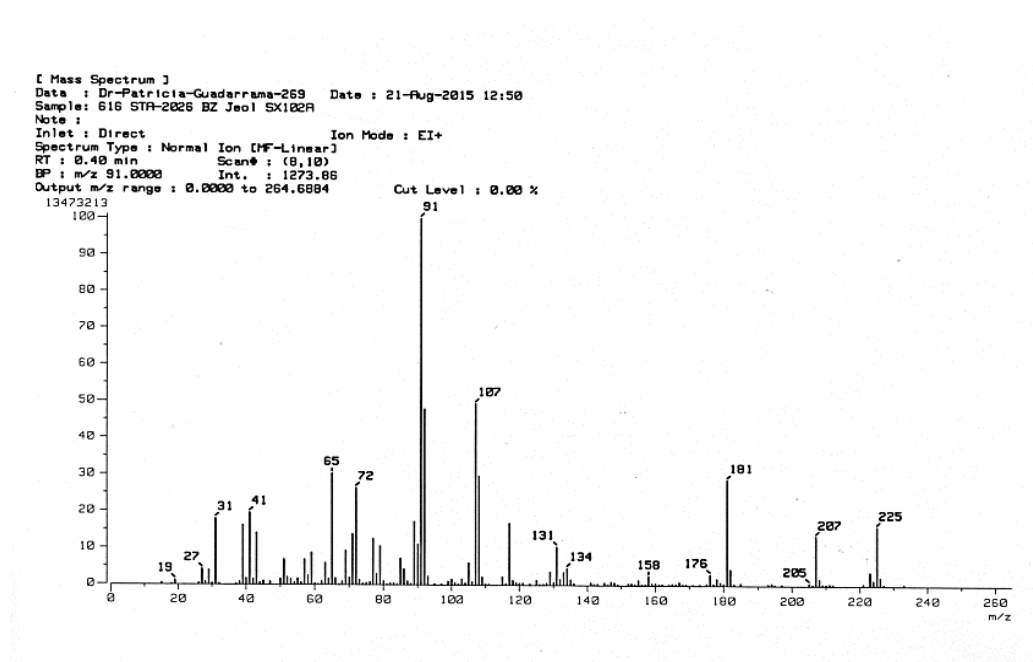
Espectro MS-IE del DPTS

Caracterización de Bencil-2,2-bis(metilol)propionato (1)

Espectro de RMN ^1H de Bencil-2,2-bis(metilol)propionato (1)Espectro de RMN ^{13}C de Bencil-2,2-bis(metilol)propionato (1)

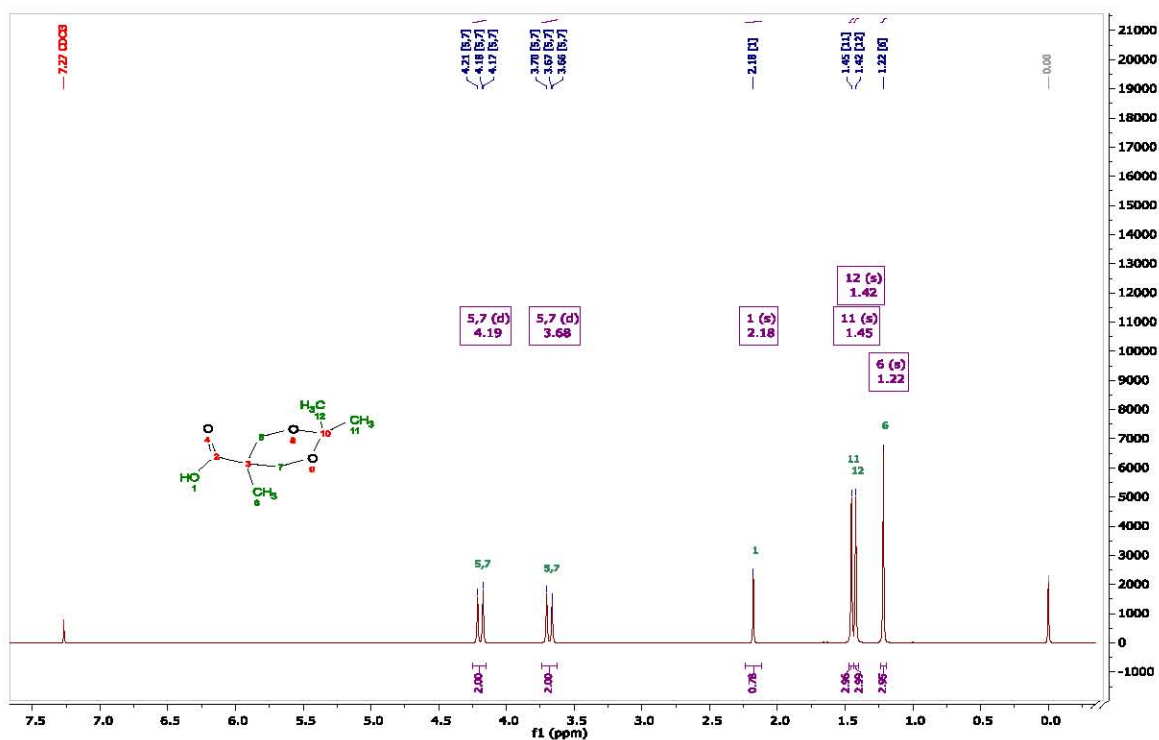
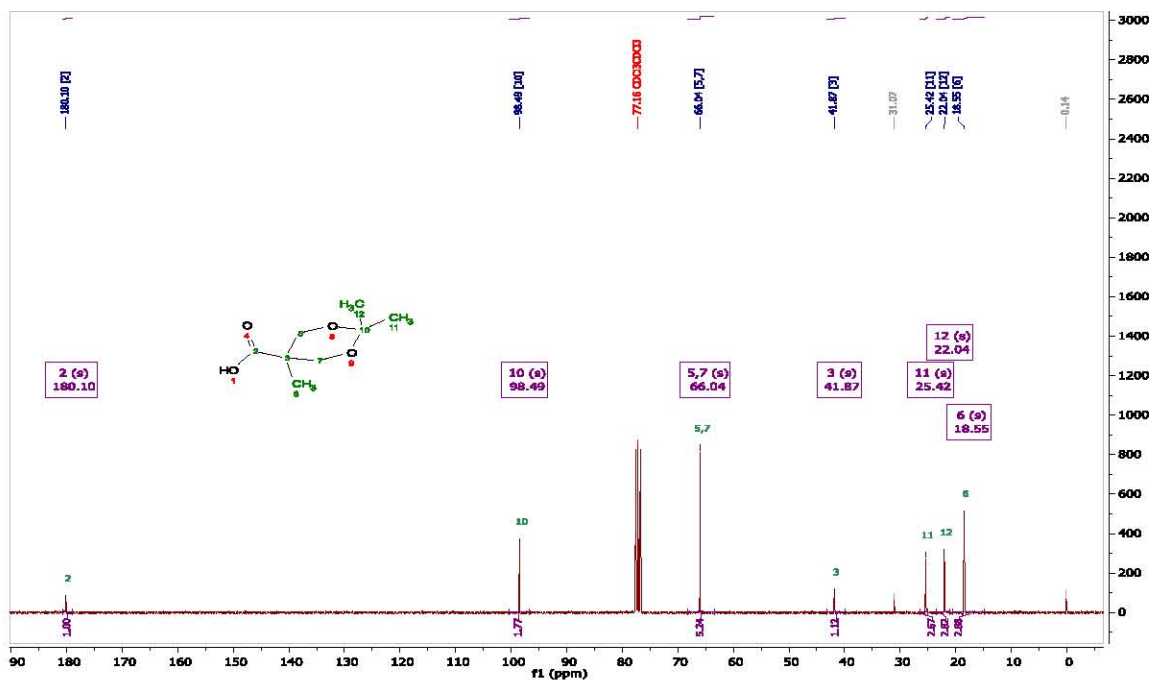


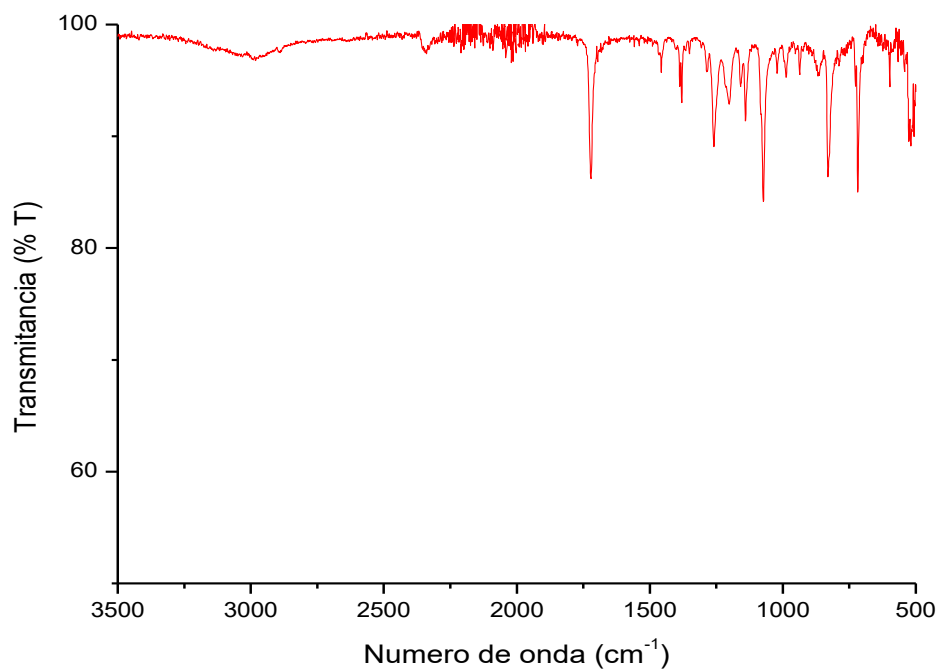
Espectro FT-IR de Bencil-2,2-bis(metilol)propionato (1)



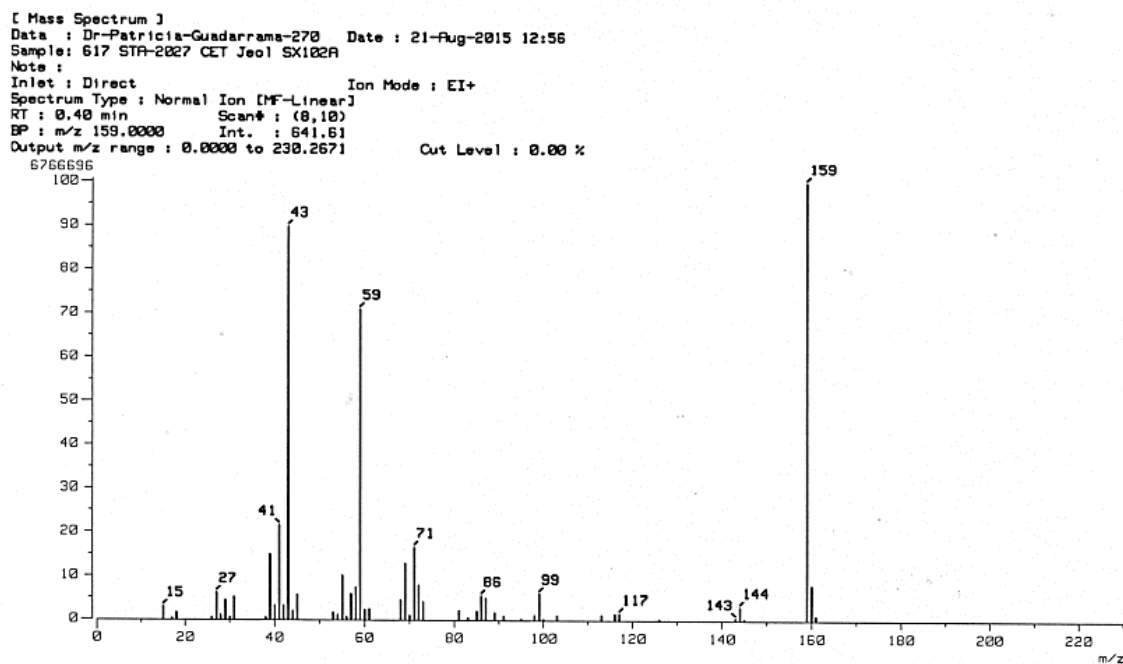
Espectro MS-IE de Bencil-2,2-bis(metilol)propionato (1)

Caracterización de Ácido isopropilideno-2,2-bis(metoxi)propiónico (2)

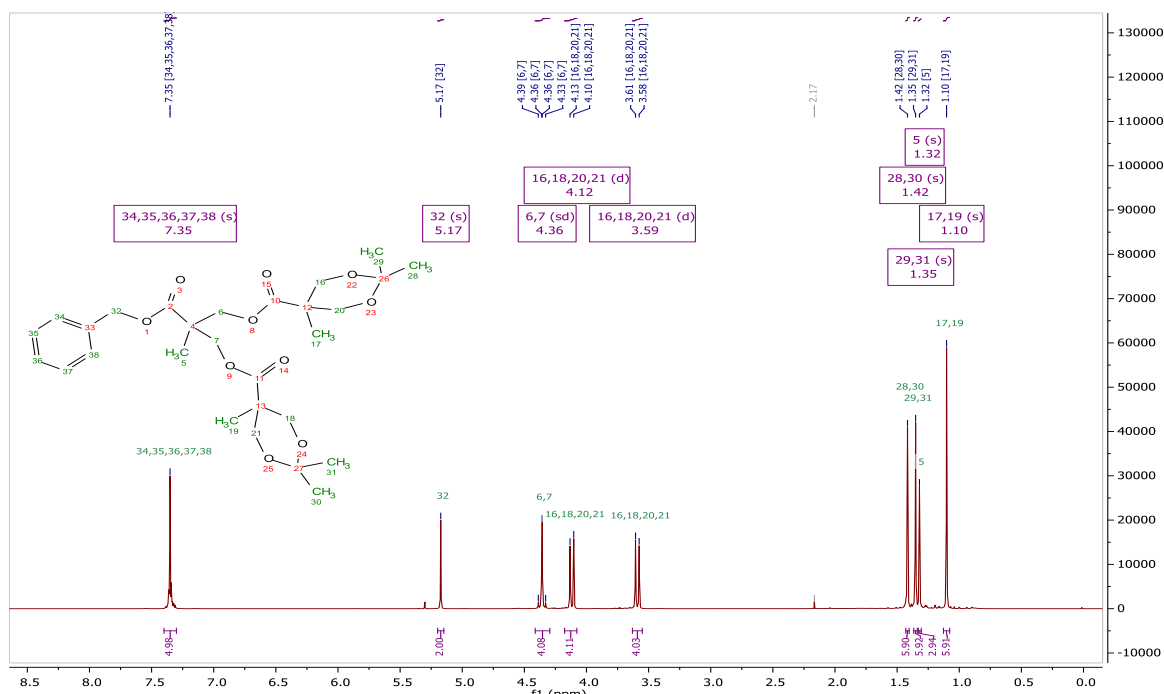
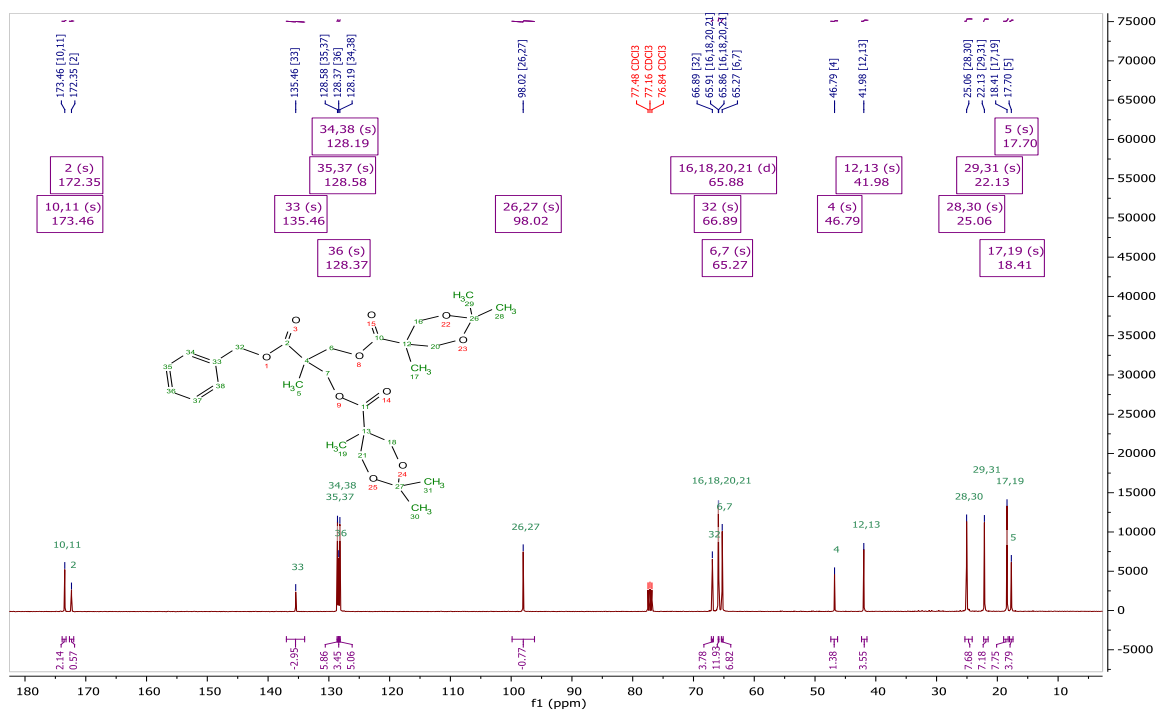
Espectro de RMN ^1H de Ácido isopropilideno-2,2-bis(metoxi)propiónico (2)Espectro de RMN ^{13}C del Ácido isopropilideno-2,2-bis(metoxi)propiónico (2)

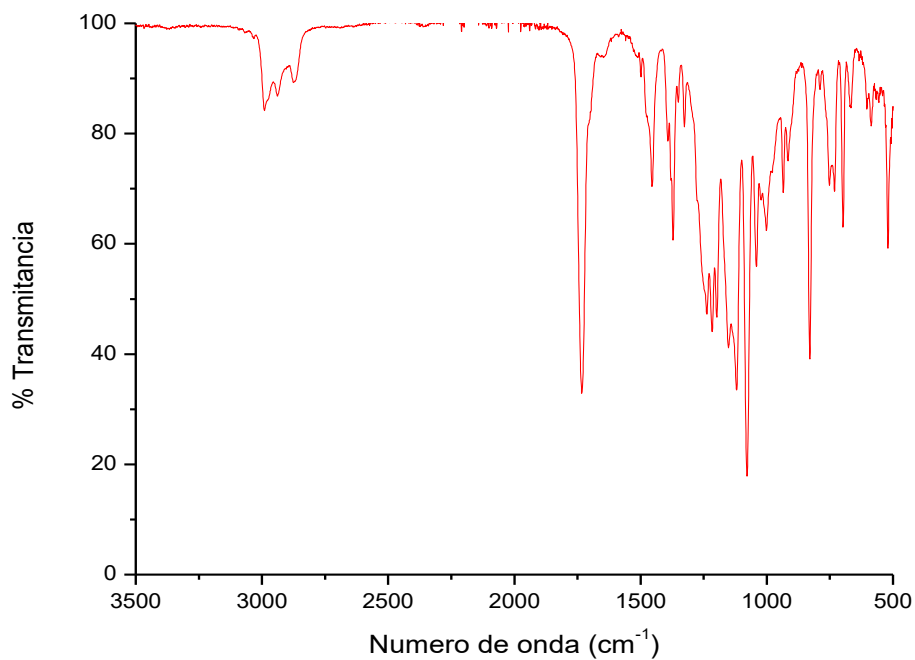


Espectro FT-IR de Ácido isopropilideno-2,2-bis(metoxi)propiónico (2)

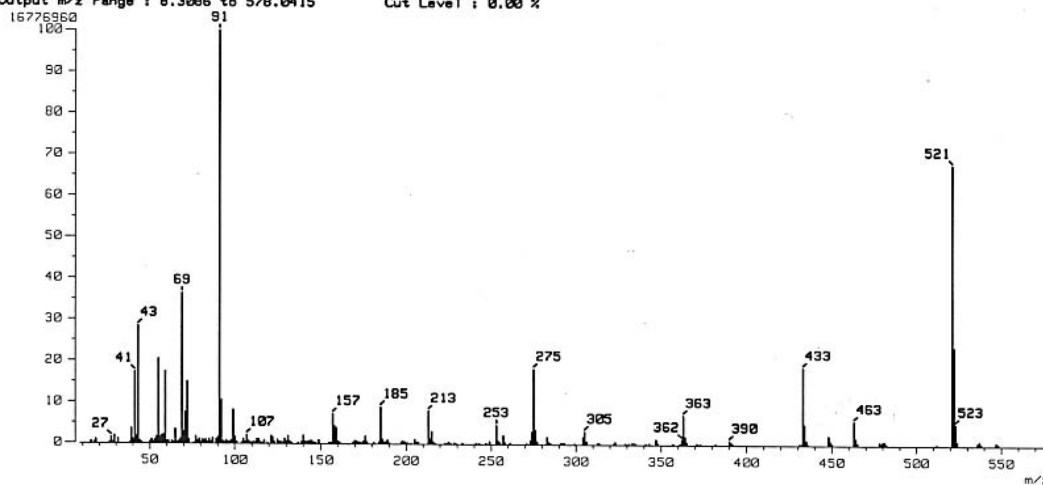


Espectro EM-IE de Ácido isopropilideno-2,2-bis(metoxi)propiónico (2)

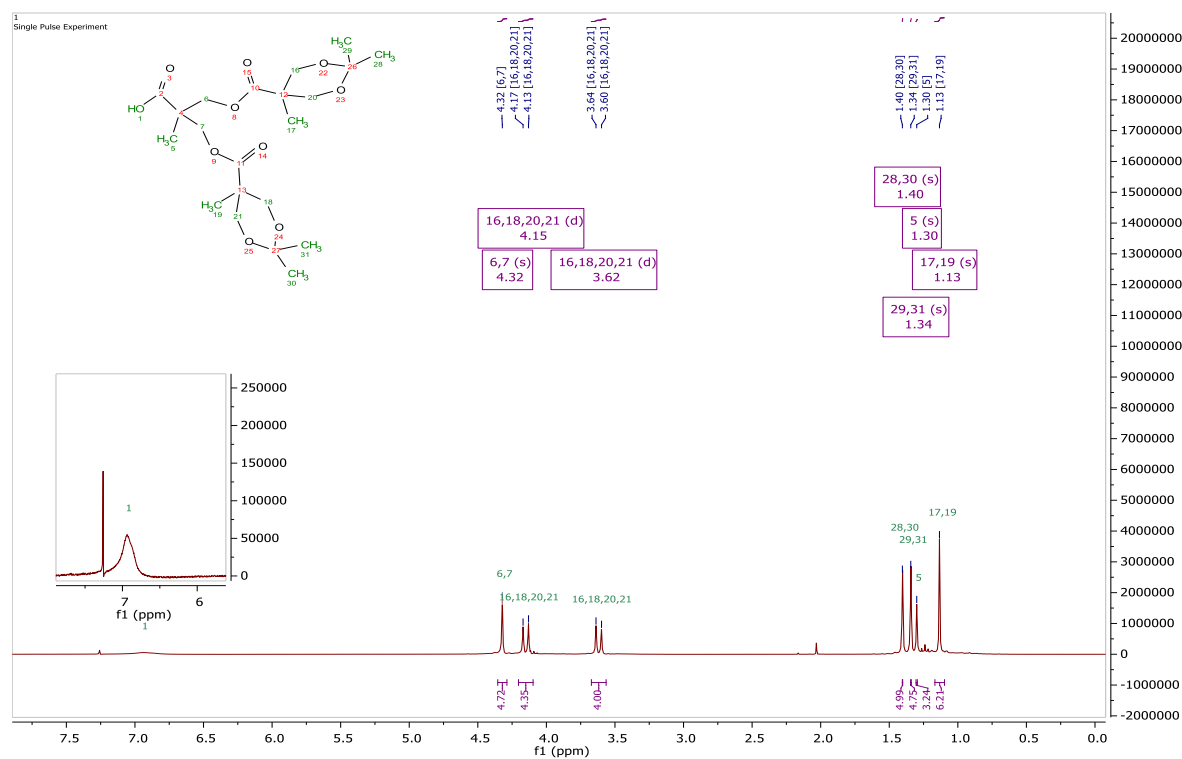
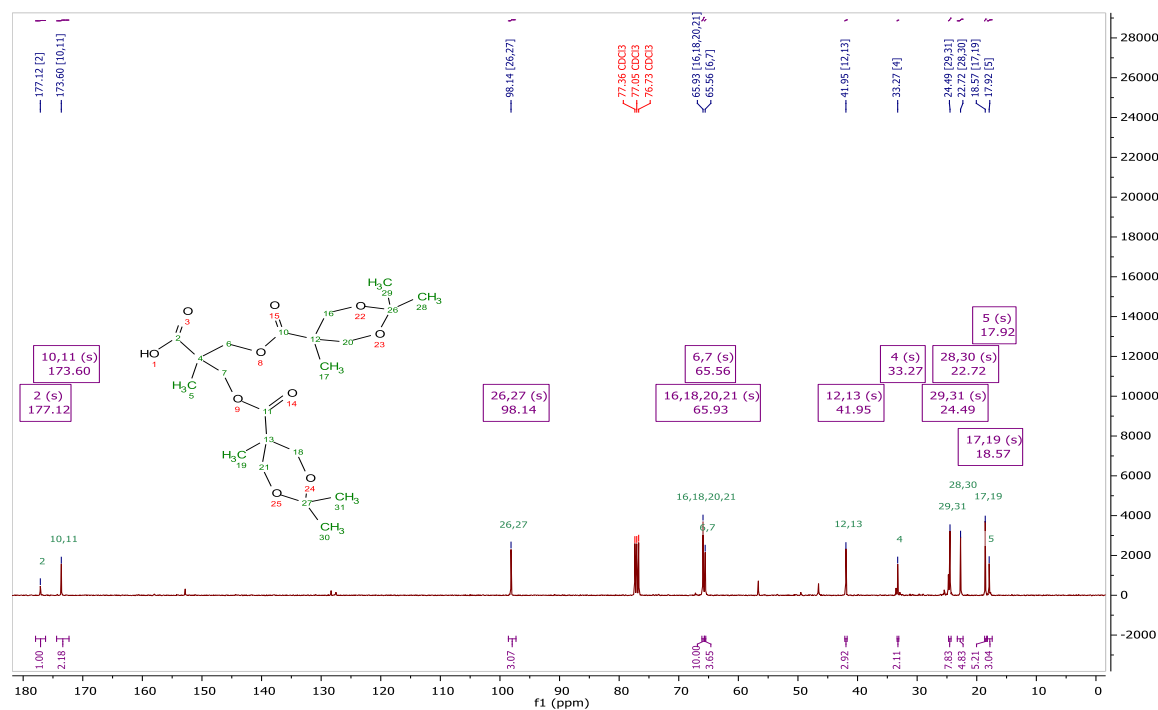
Caracterización de G2]-CO₂CH₂C₆H₅ (3)Espectro de RMN ¹H de G2]-CO₂CH₂C₆H₅ (3)Espectro RMN ¹³C de G2]-CO₂CH₂C₆H₅ (3)

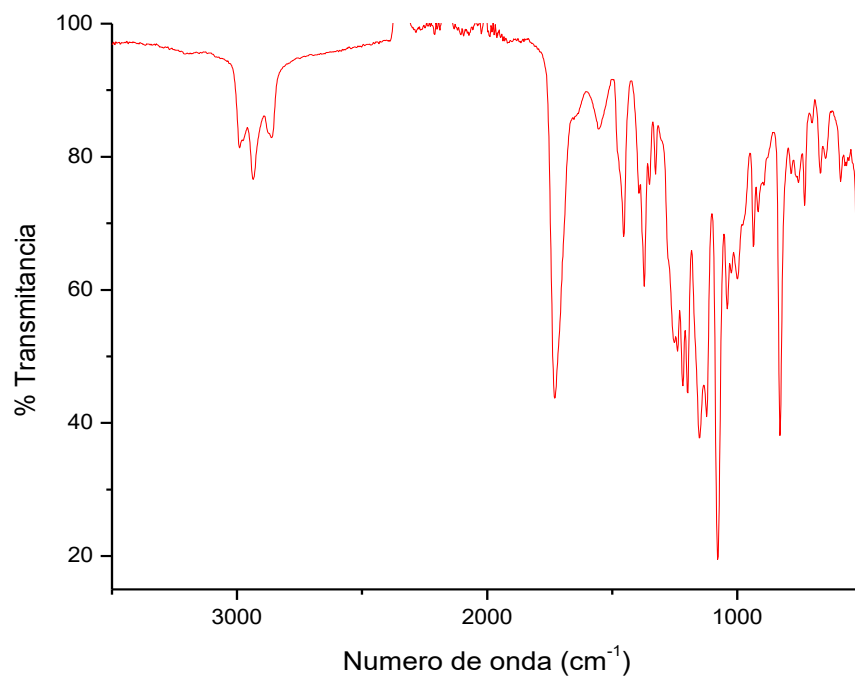
Espectro FT-IR de G2]-CO₂CH₂C₆H₅ (3)

[Mass Spectrum]
Data : Dr-Patricia-Guadarrama-271 Date : 21-Aug-2015 12:59
Sample: 618 STA-2028 D2G-P Jeol SX102A
Note :
Inlet : Direct Ion Mode : EI+
Spectrum Type : Normal Ion [MF-Linear]
RT : 0.99 min Scan# : (20,22)
BP : m/z 91.0000 Int. : 1599.98
Output m/z range : 0.3066 to 578.0415 Cut Level : 0.00 %

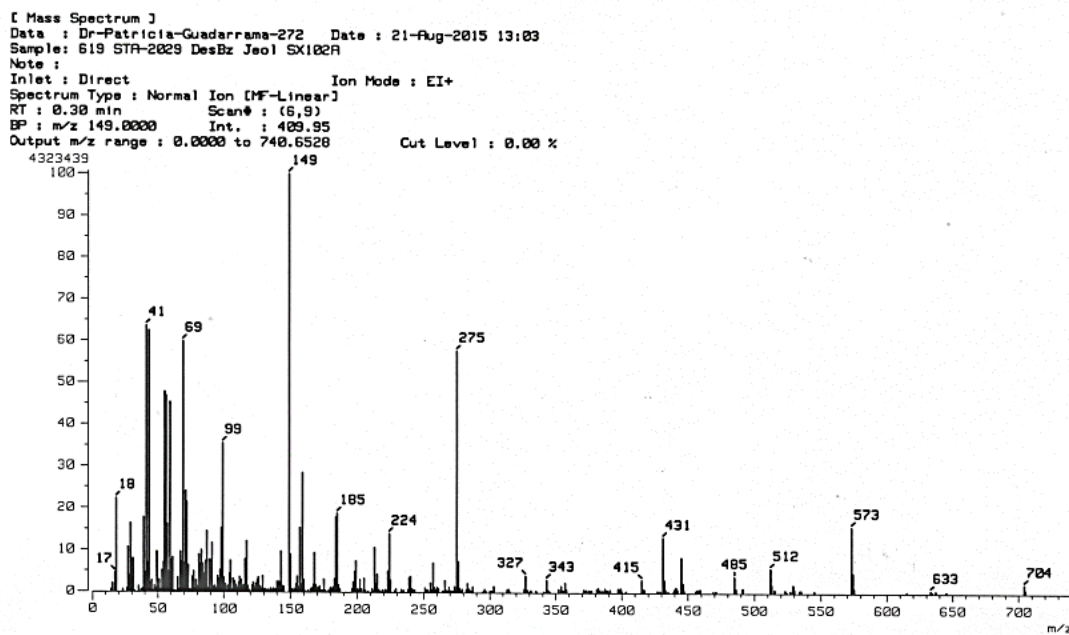
Espectro MS-IE de G2]-CO₂CH₂C₆H₅ (3)

Caracterizacione de : [G2]- COOH (4)

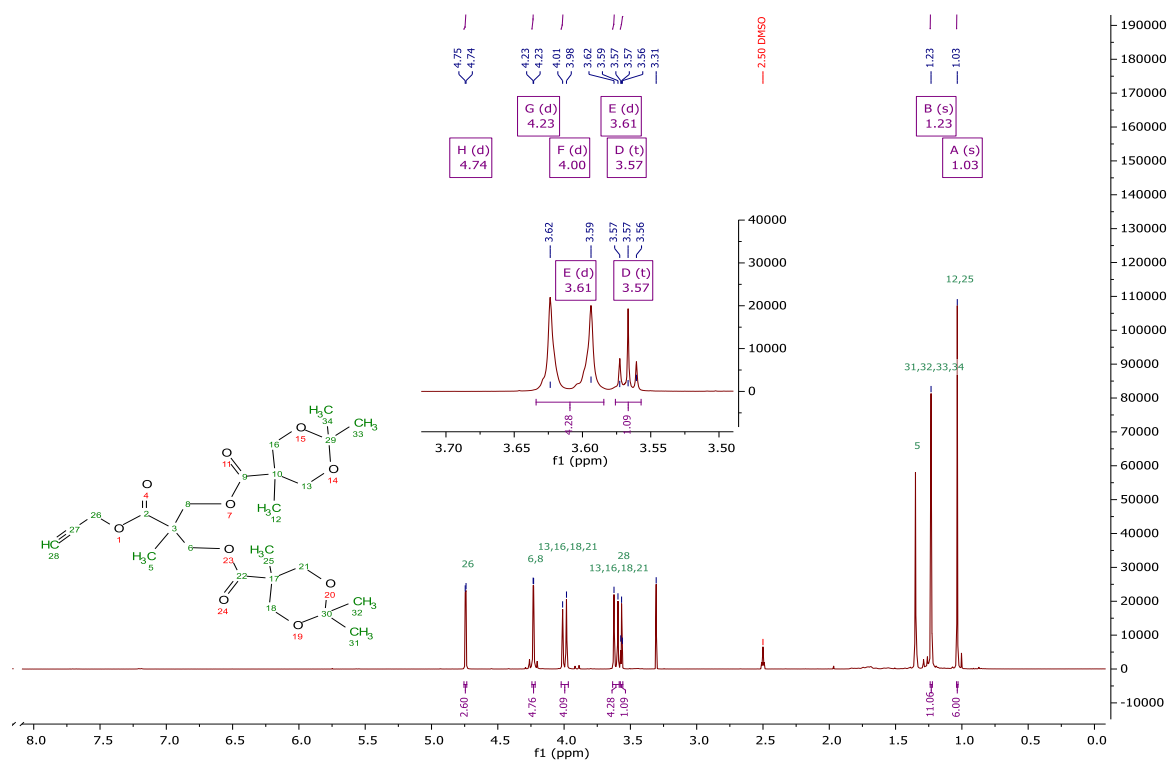
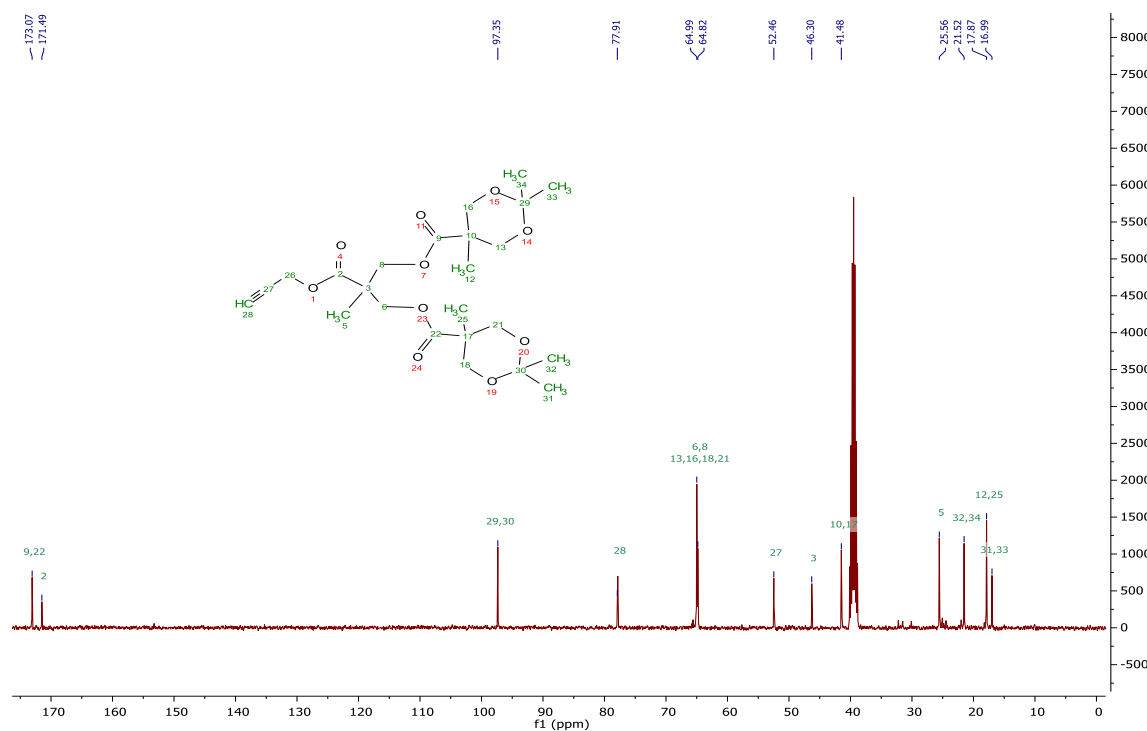
Espectro de RMN ¹H de : [G2]- COOH (4)Espectro de RMN ¹³C de : [G2]- COOH (4)

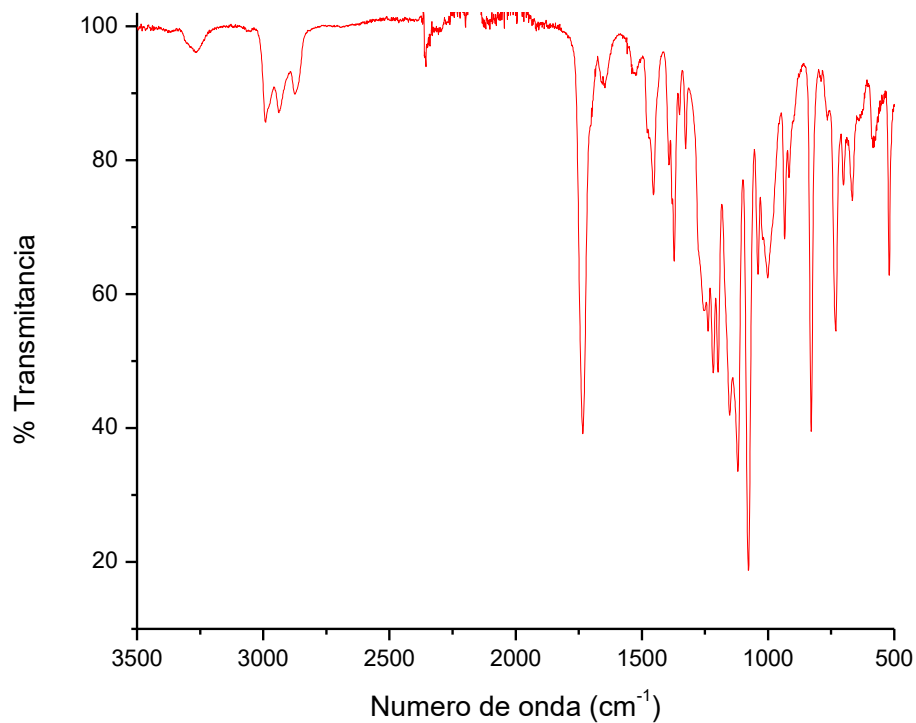


Espectro FT-IR de : [G2]- COOH (4)

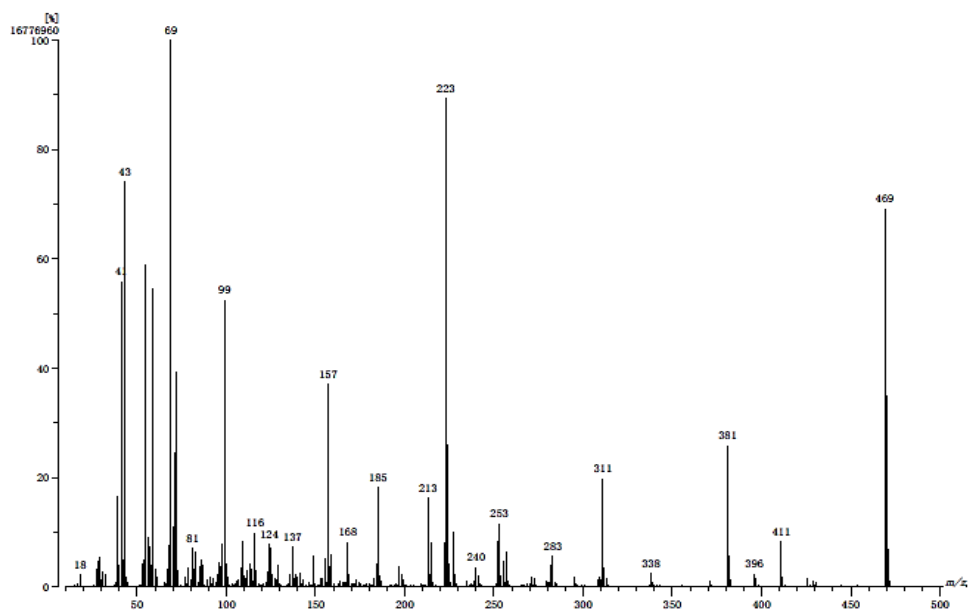


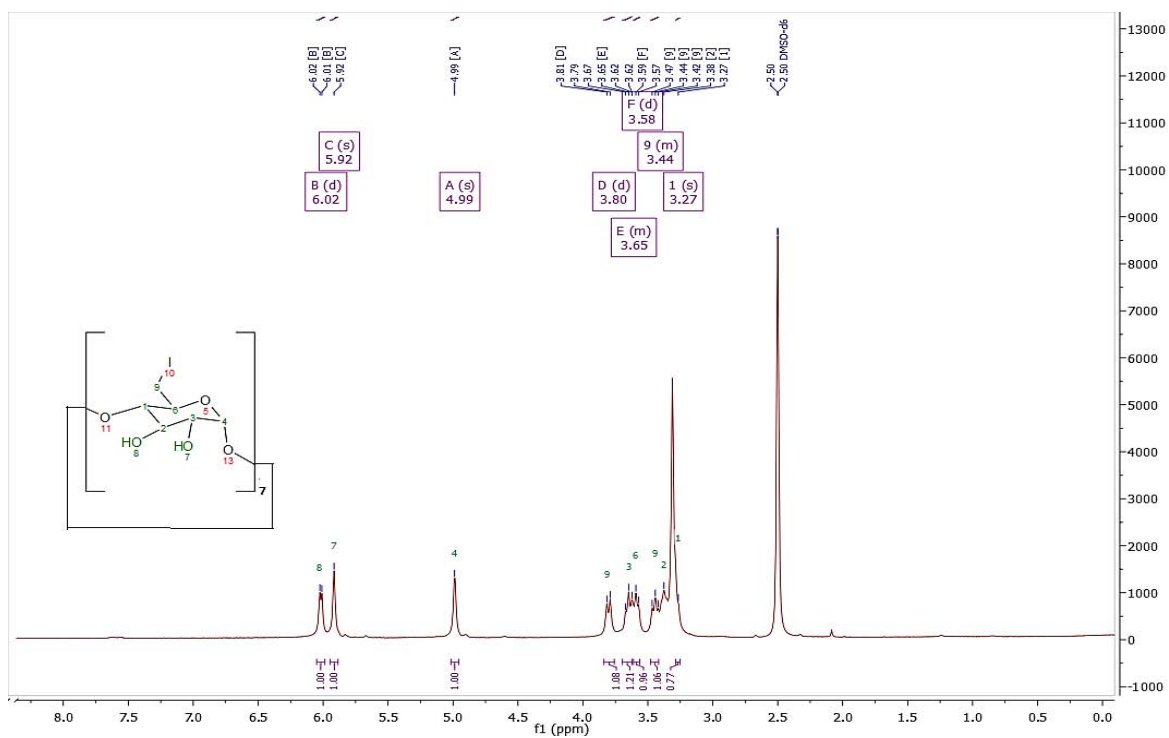
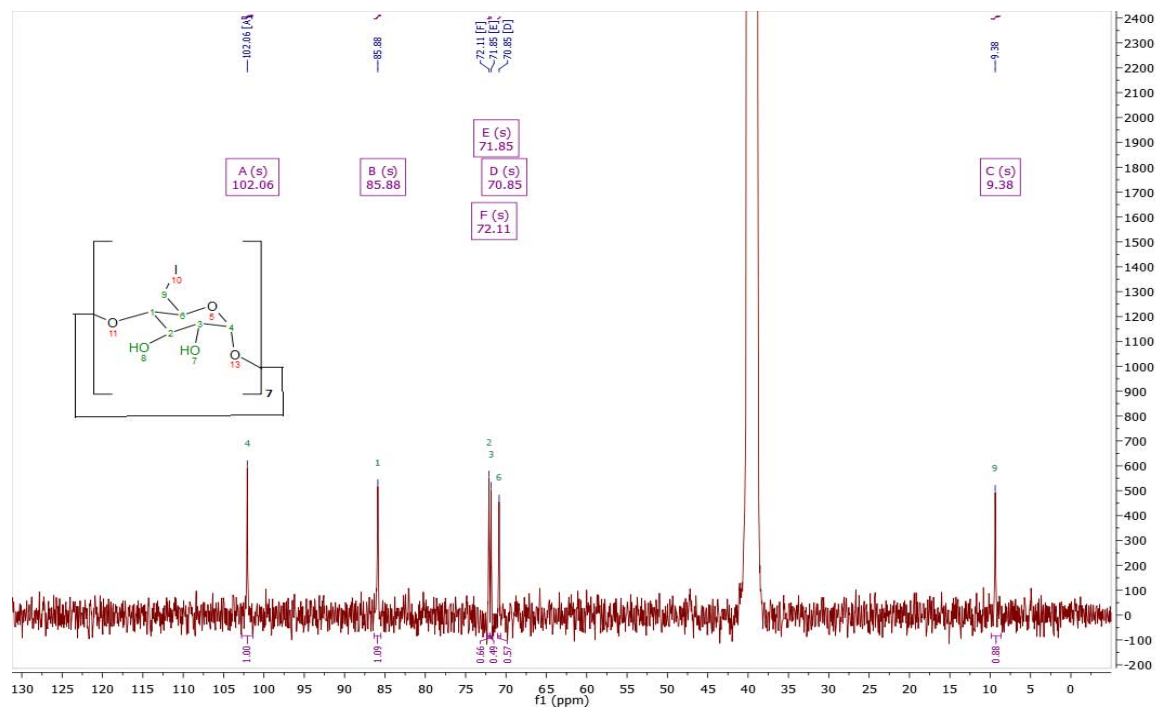
Espectro MS-IE de: [G2]- COOH (4)

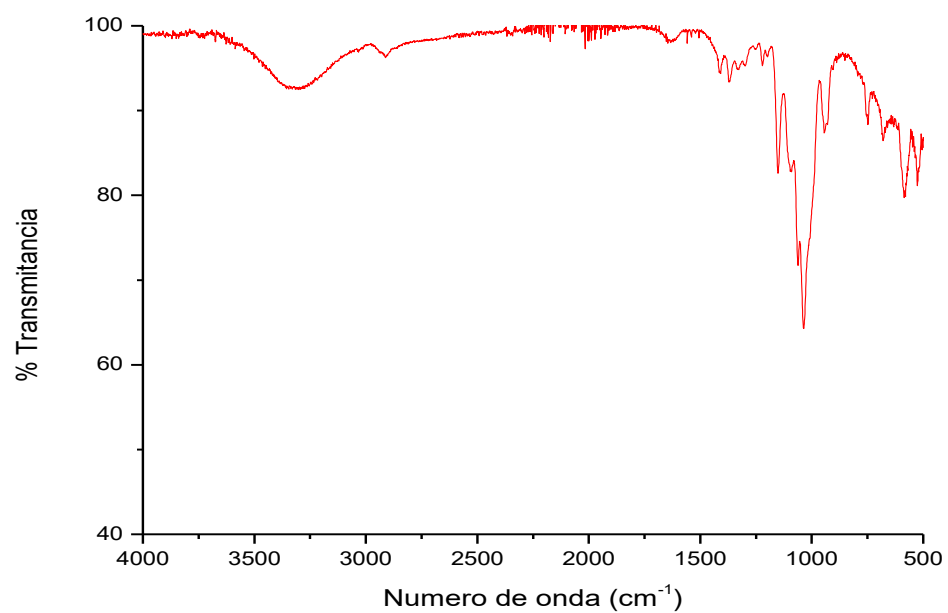
Caracterización de: [G2]- CO₂CH₂C₂H (5)Espectro de RMN ¹H de [G2]- CO₂CH₂C₂H (5)Espectro de RMN ¹³C de [G2]- CO₂CH₂C₂H (5)

Espectro FT-IR de [G2]- CO₂CH₂C₂H (5)

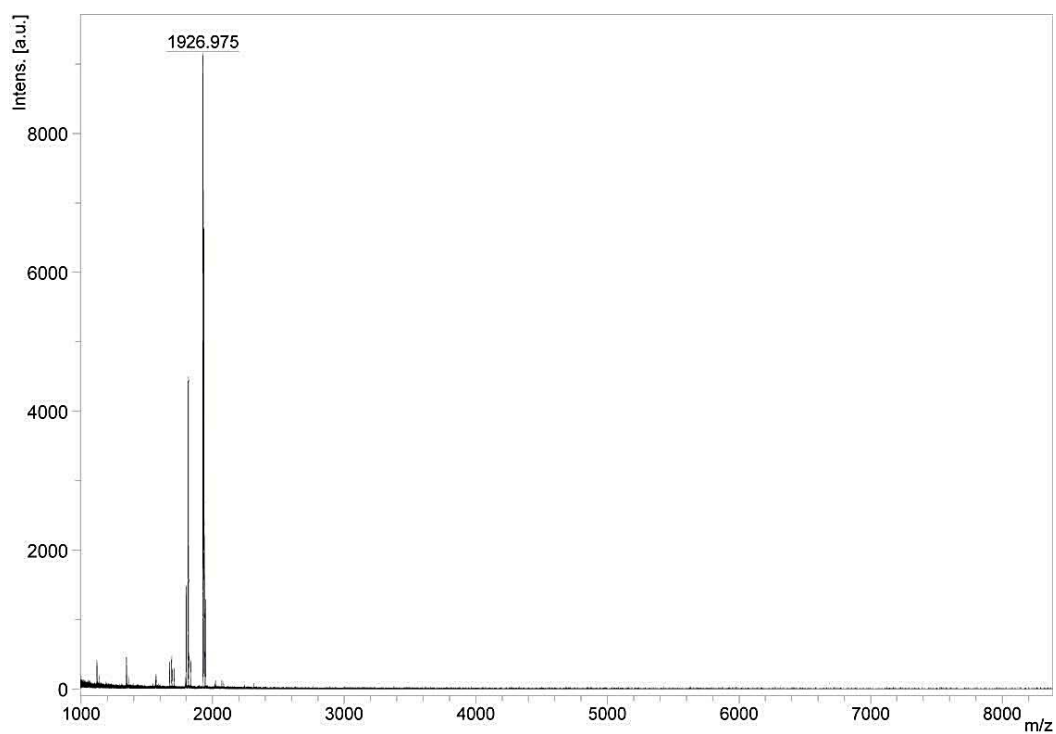
Note : Operator: Carmen Garcia-Javier Perez
Inlet : Direct Ion Mode : ES+
Spectrum Type : Normal Ion [MF-Linear]
RT : 0.48 min Scan#: (18,17) Temp : 3276.7 deg.C
BP : m/z 69 Int. : 1599.99 (16776960)
Output m/z range : 10 to 502 Cut Level : 0.00 %

Espectro MS-IE de [G2]- CO₂CH₂C₂H (5)

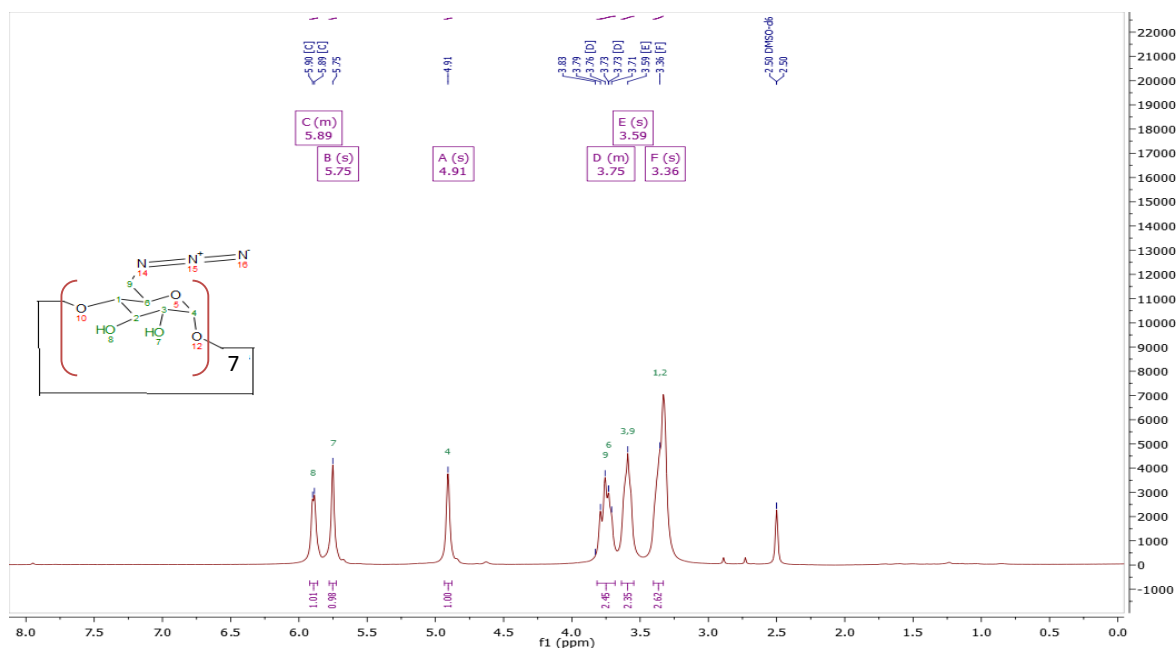
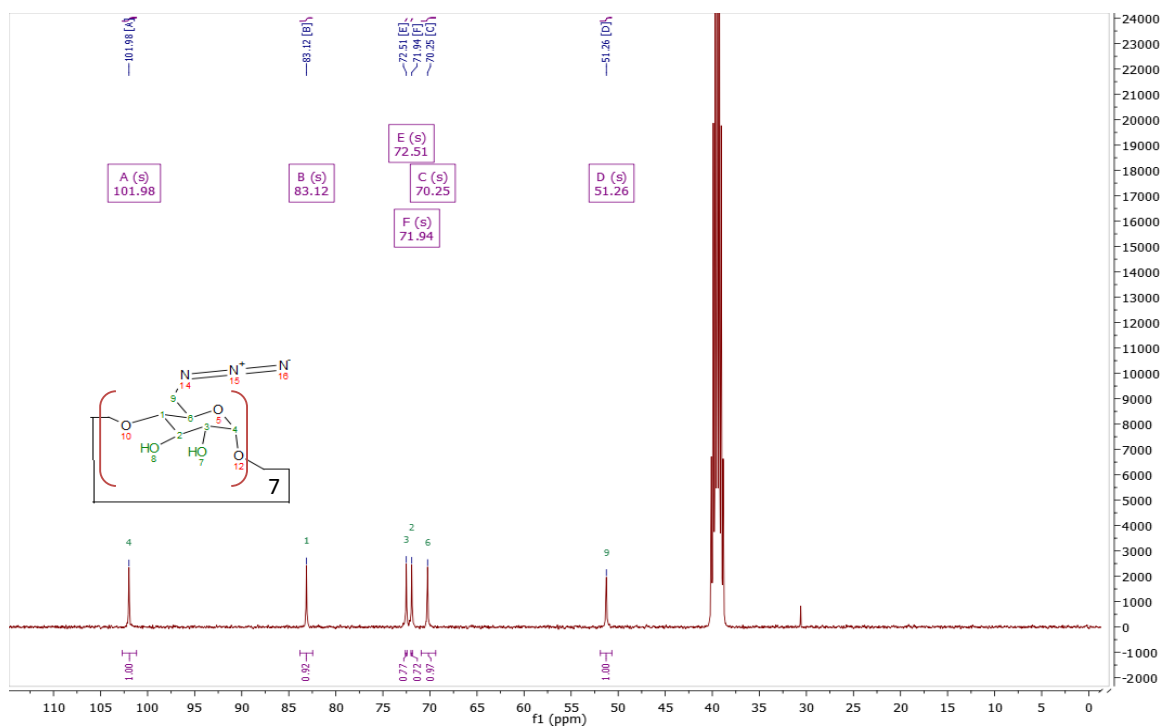
Caracterización de Heptakis (6-deoxi-6-iodo)- β -ciclodextrina (6)Espectro de RMN ^1H de Heptakis (6-deoxi-6-iodo)- β -ciclodextrina (6)Espectro de RMN ^{13}C de Heptakis (6-deoxi-6-iodo)- β -ciclodextrina (6)

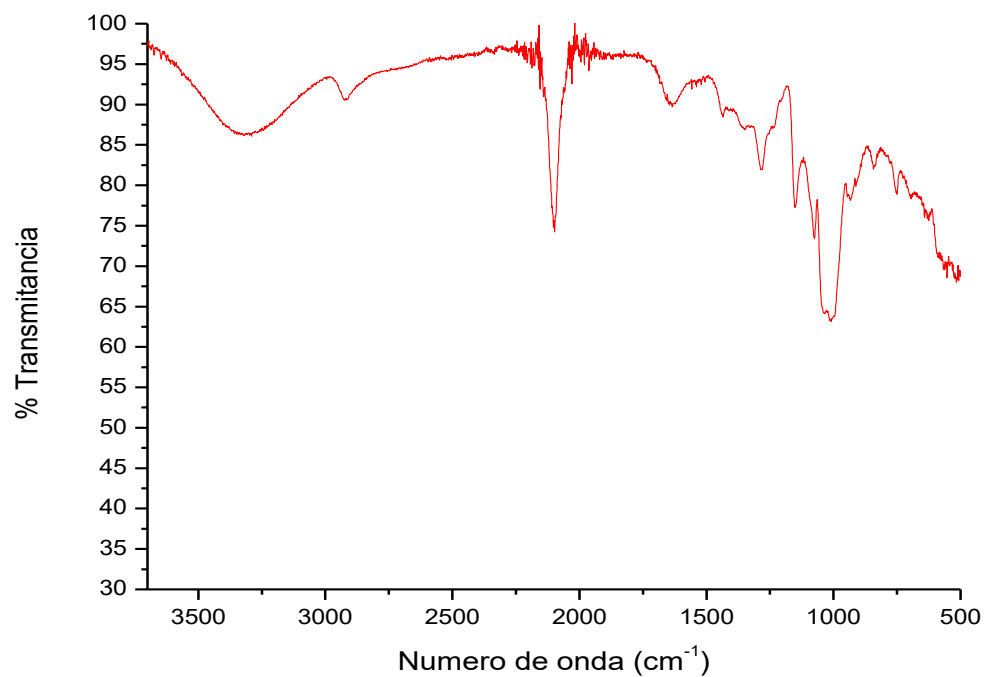


Espectro FT-IR de Heptakis (6-deoxi-6-iodo)-β-ciclodextrina (6)

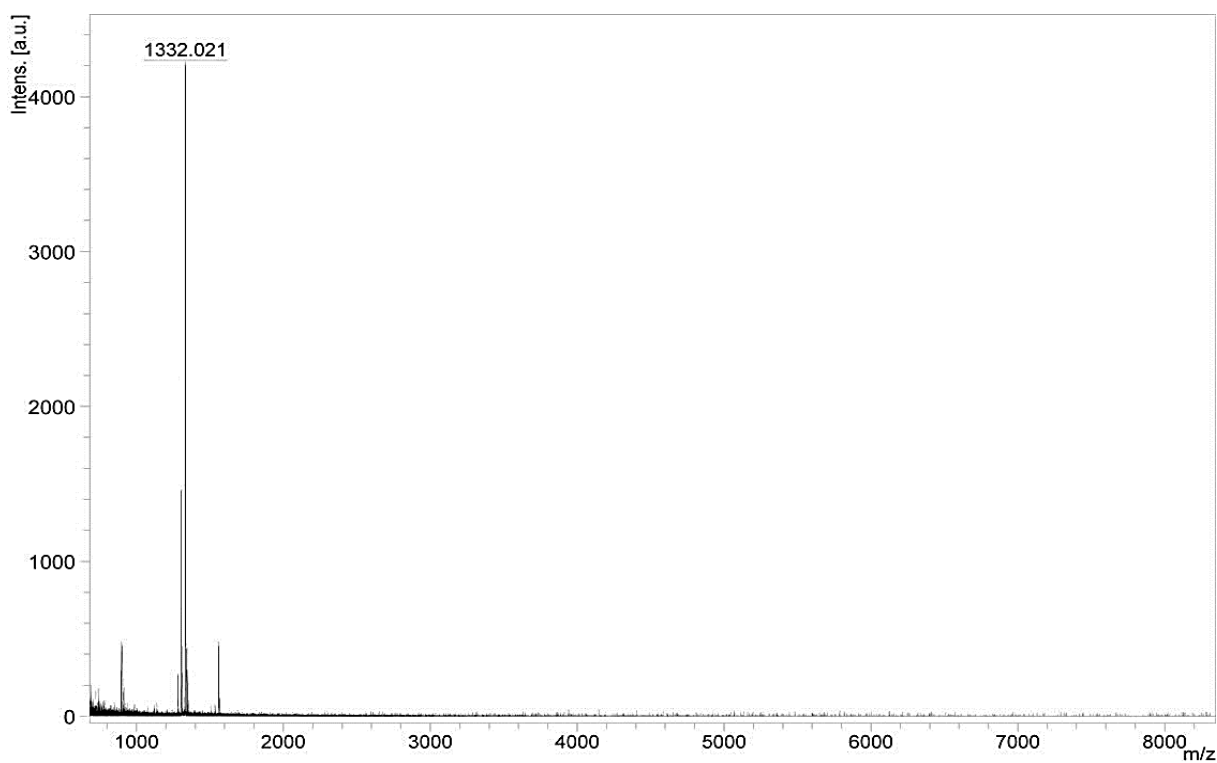


Espectro MALDI-TOF de Heptakis (6-deoxi-6-iodo)-β-ciclodextrina (6)

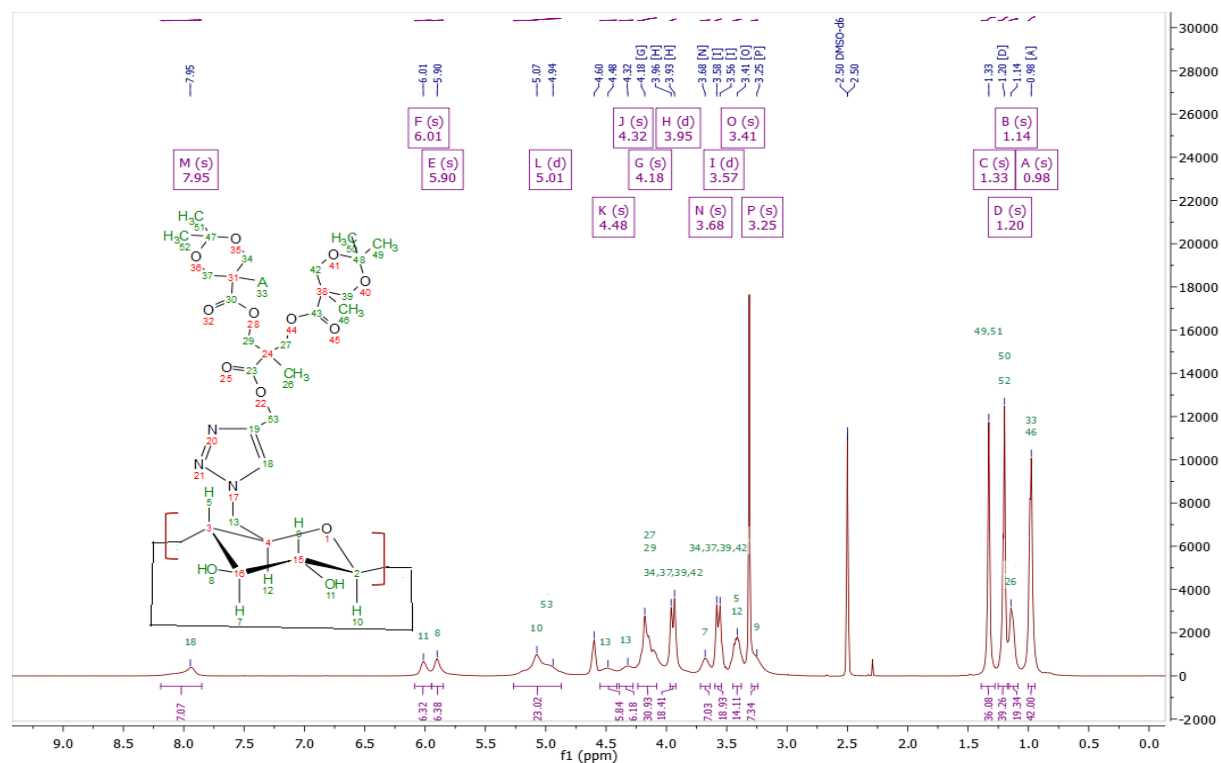
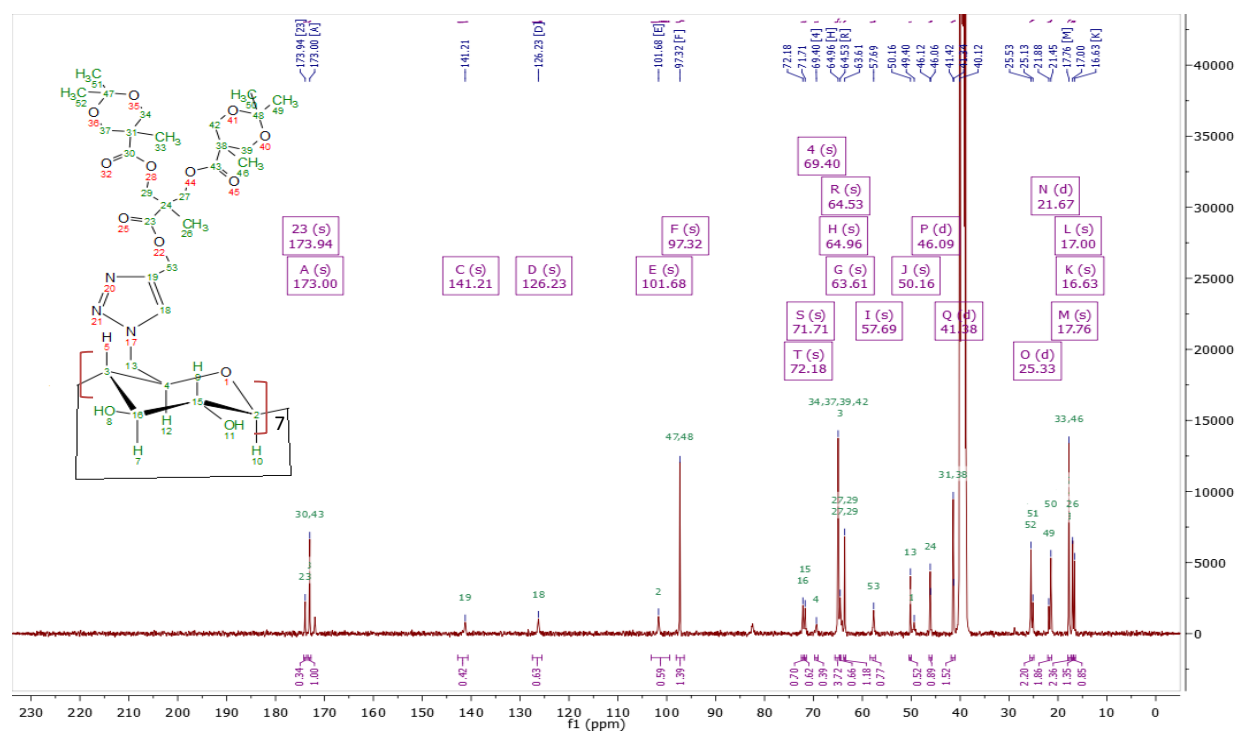
Caracterización de Heptakis (6-deoxi-6-azido)- β -ciclodextrina (7)Espectro RMN ^1H de Heptakis (6-deoxi-6-azido)- β -ciclodextrina (7)Espectro de RMN ^{13}C de Heptakis (6-deoxi-6-azido)- β -ciclodextrina (7)

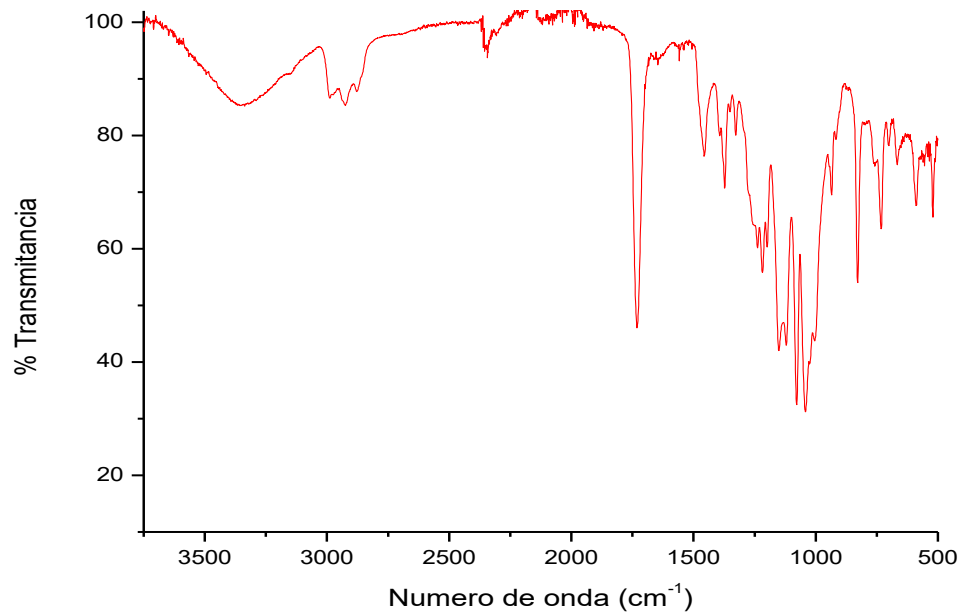
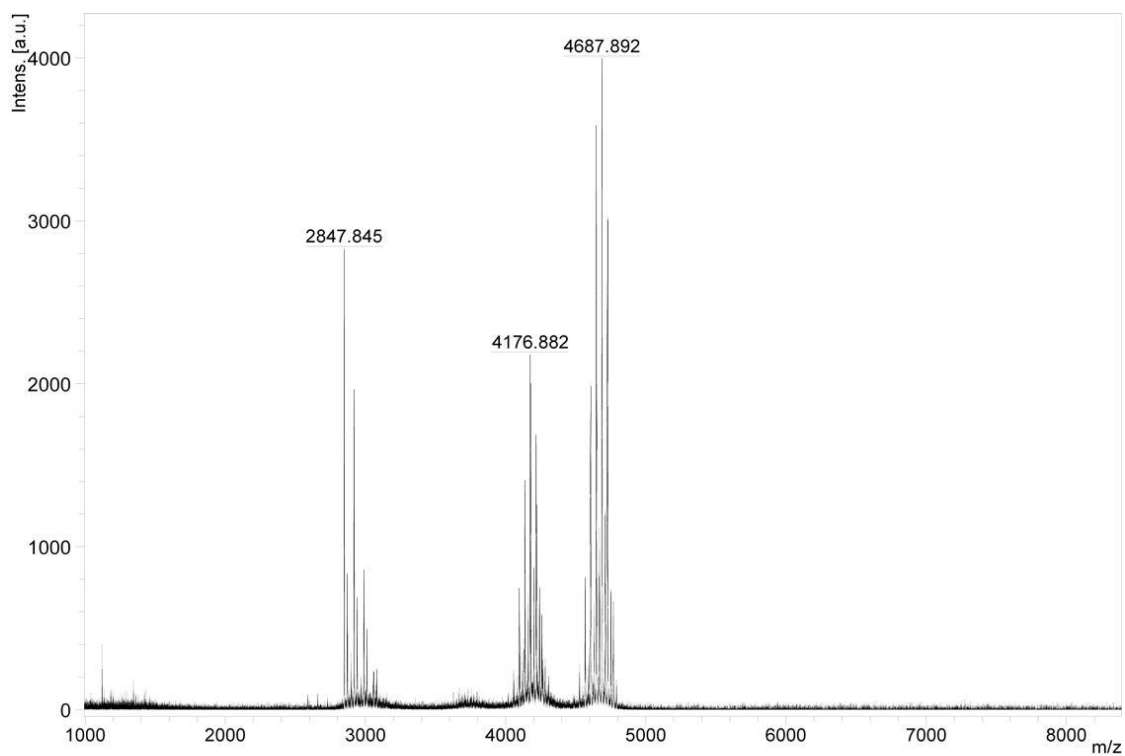


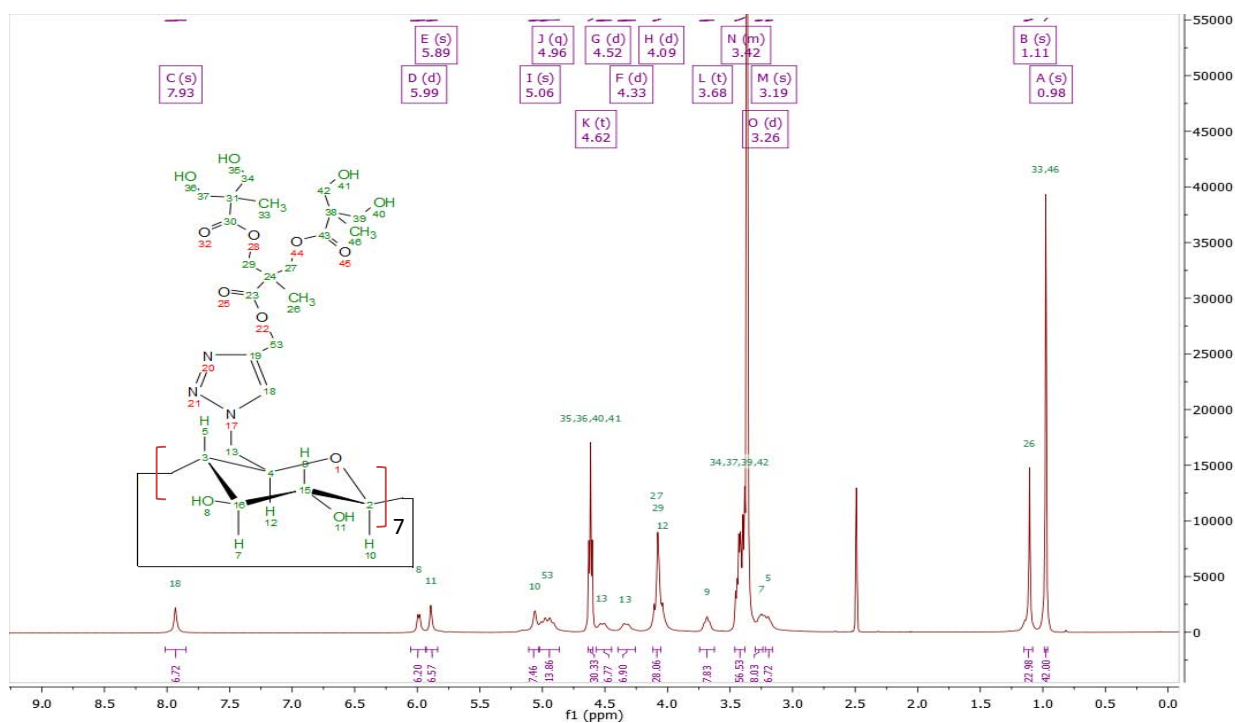
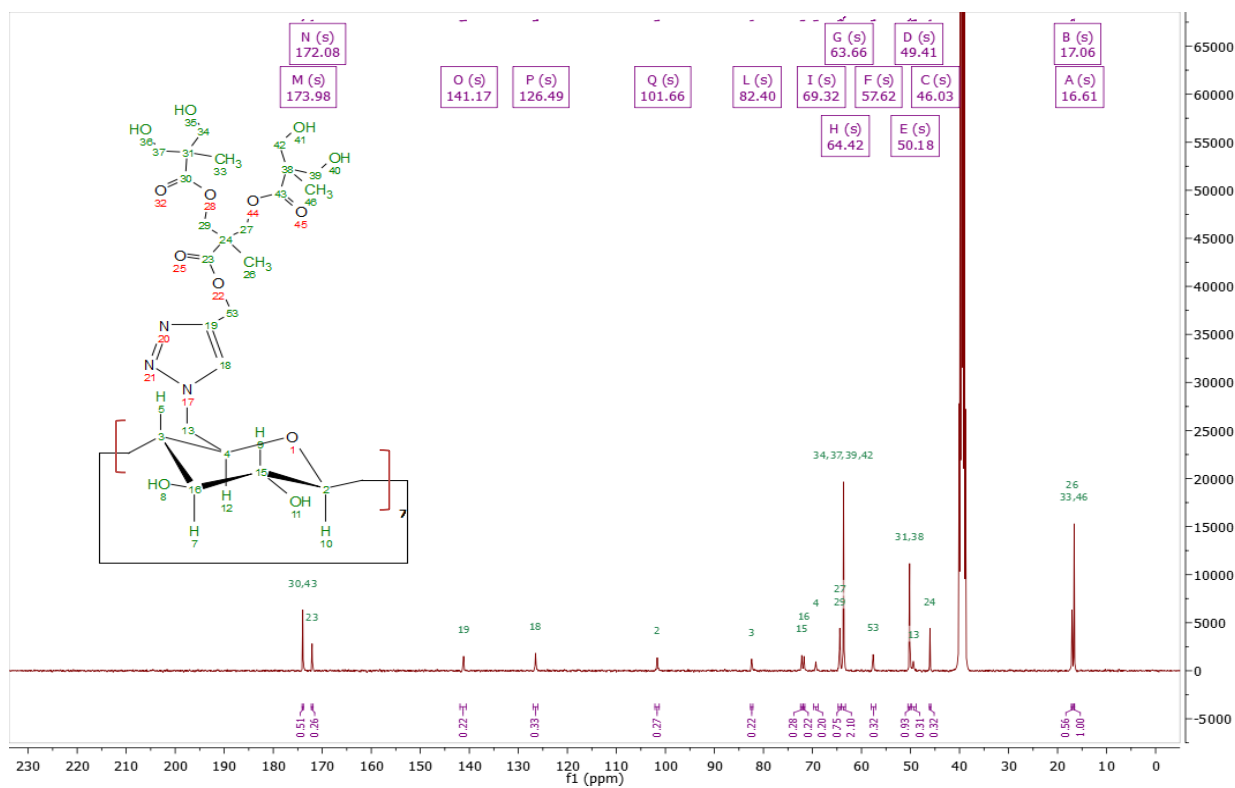
Espectro FT-IR de Heptakis (6-deoxi-6-azido)-β-ciclodextrina (7)

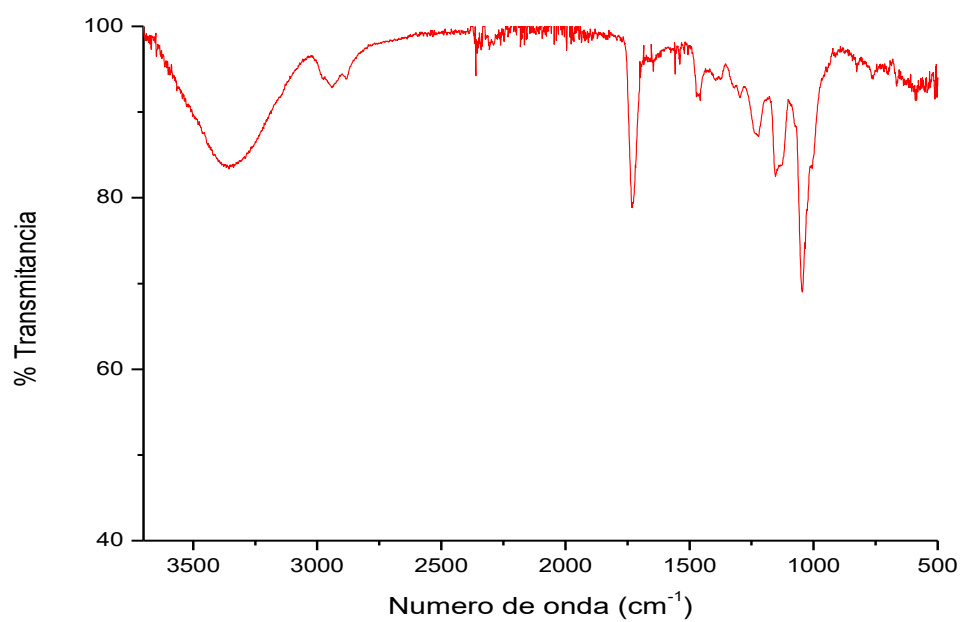
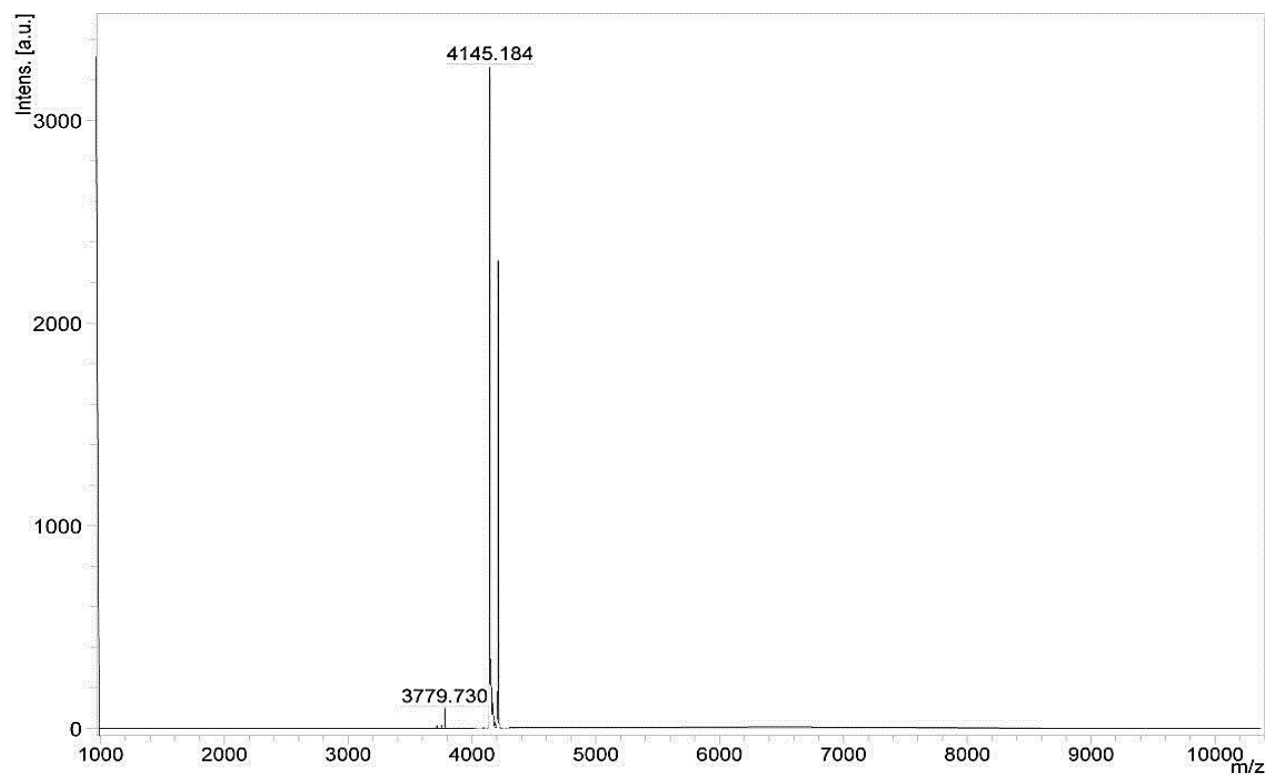


Espectro MALDI-TOF de Heptakis (6-deoxi-6-azido)-β-ciclodextrina (7)

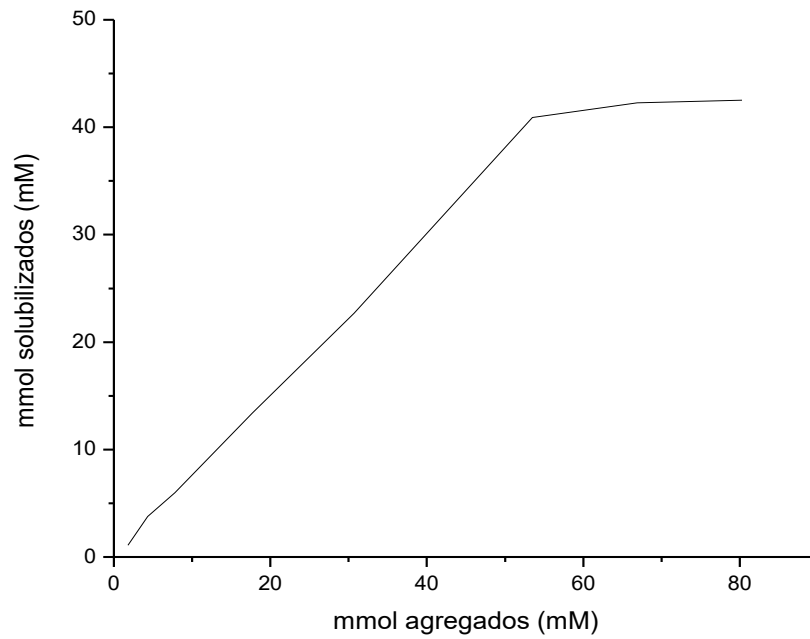
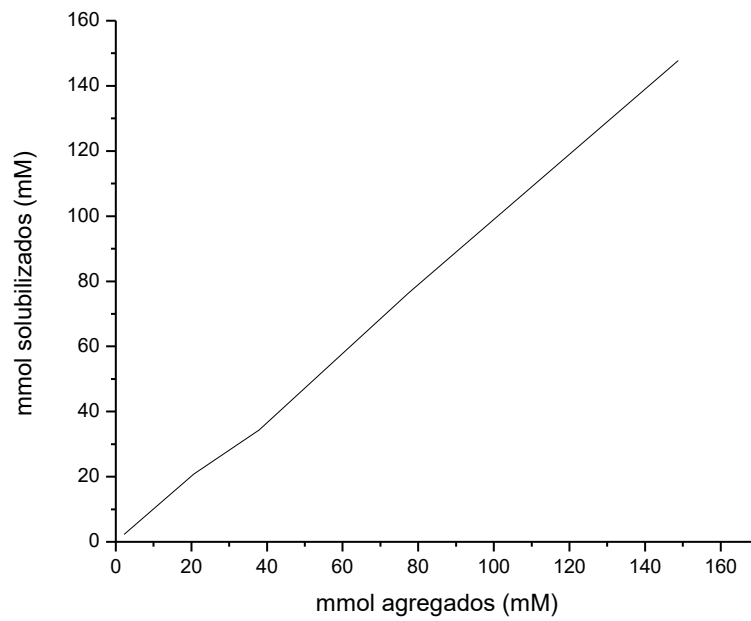
Caracterización de β -ciclodextrina-[G2]-protegido (8)Espectro RMN ^1H de β -ciclodextrina-[G2]-protegido (8)Espectro de RMN ^{13}C de β -ciclodextrina-[G2]-protegido (8)

Espectro FT-IR de β -ciclodextrina-[G2]-protegido (8)Espectro MALDI-TOF de β -ciclodextrina-[G2]-protegido (8)

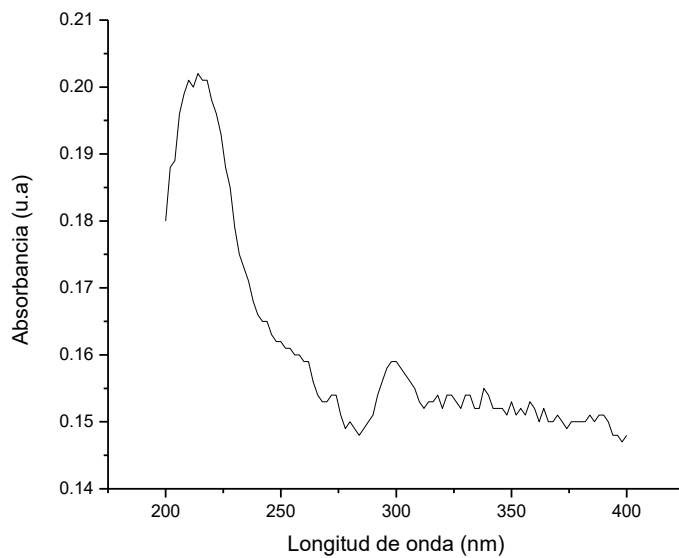
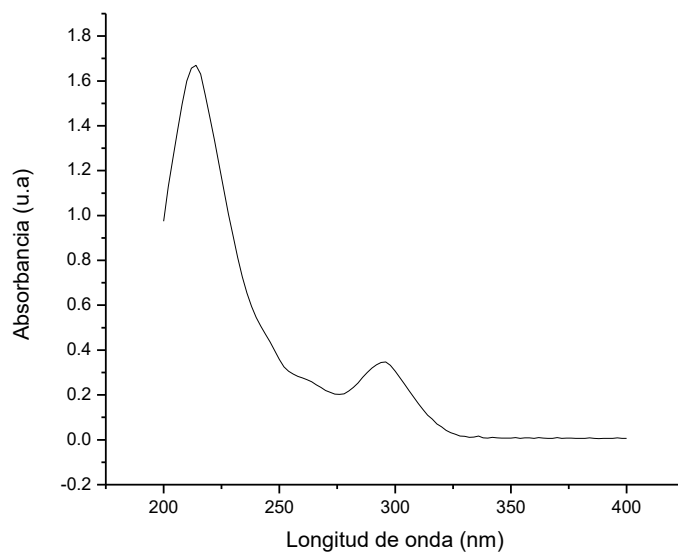
Espectro RMN ^1H de β -ciclodextrina-[G2]-OH (9)Espectro de RMN ^{13}C de β -ciclodextrina-[G2]-OH (9)

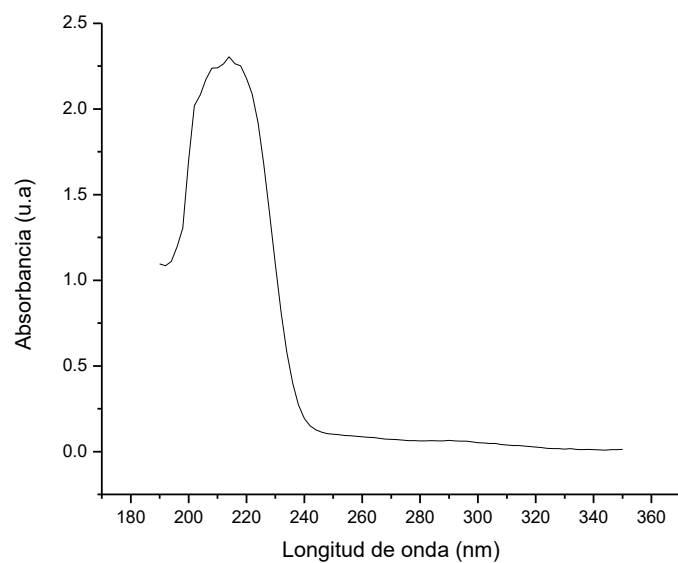
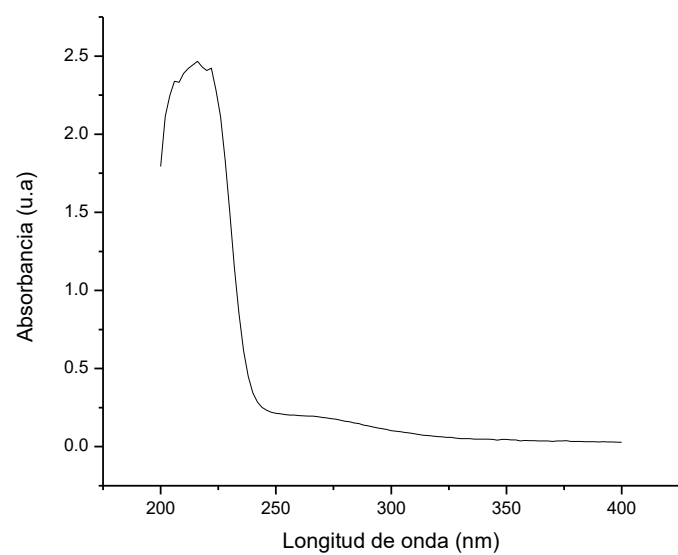
Espectro FT-IR de β -ciclodextrina-[G2]-OH (9)Espectro MALDI-TOF de β -ciclodextrina-[G2]-OH (9)

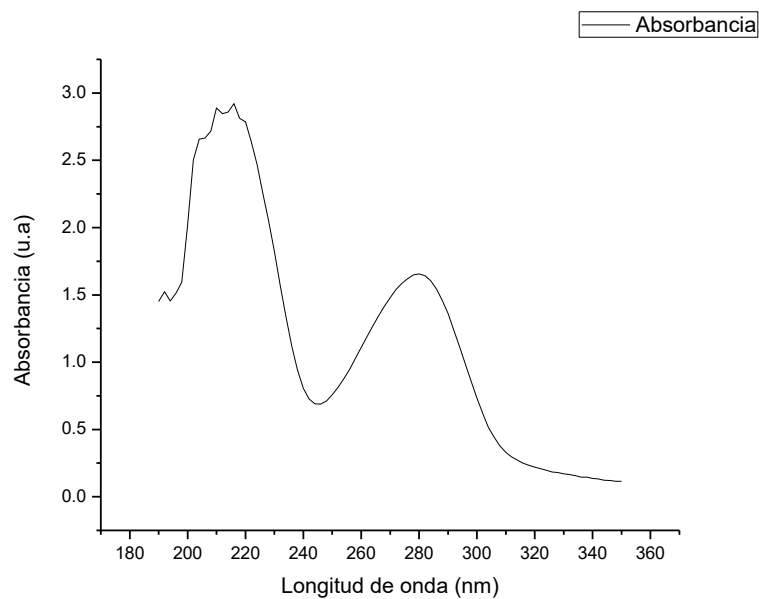
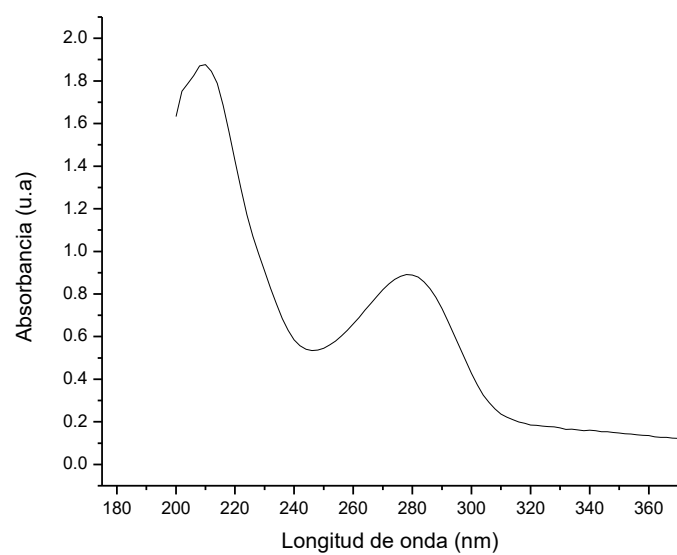
Pruebas de solubilidad

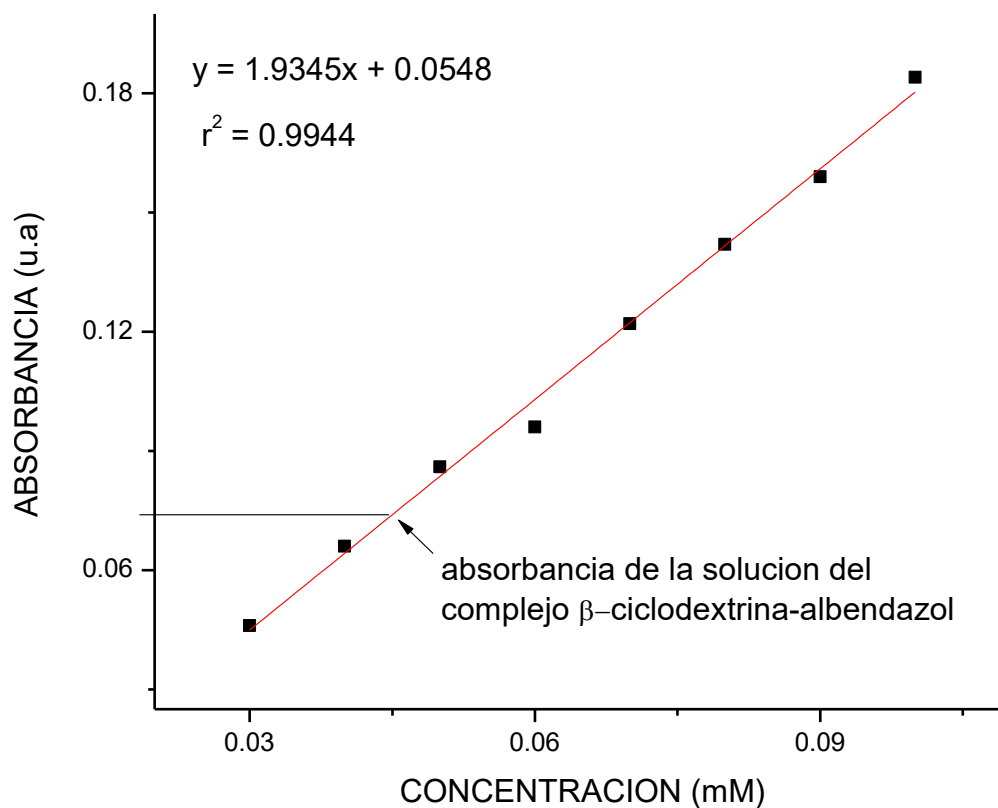
Diagrama de solubilidad de β -ciclodextrina PEGDiagrama de -Solubilidad de β -ciclodextrina-[G2]-OH

Complejos de inclusión

Espectro UV del complejo de β -ciclodextrina albendazolEspectro UV del complejo de β -ciclodextrina albendazol

Espectro UV del complejo β -ciclodextrina-[G2]-OH-albendazolEspectro UV β -ciclodextrina-[G2]-OH

Espectro de UV del complejo de β -ciclodextrina PEG-albendazolEspectro de UV de β -ciclodextrina PEG



Curva de calibración del albendazol

Una vez obtenido el liofilizado del protocolo 4.5.1, se disolvió el sólido en 5 mL de agua mili Q, de esta disolución, se toma una alícuota de 1 mL y se diluye en 5mL. A esta disolución se le hizo la lectura que se presenta en la curva de calibración. Obteniendo una concentración de 0.044 mM lo que equivale a 0.0011 mmol de albendazol.

Referencias

1. Lopes, W. D. Z. *et al.* Historic of therapeutic efficacy of albendazol sulphoxide administered in different routes, dosages and treatment schemes, against *Taenia saginata* cysticercus in cattle experimentally infected. *Exp. Parasitol.* **137**, 14–20 (2014).
2. Cruz, I., Cruz, M. E., Carrasco, F. & Horton, J. Neurocysticercosis: optimal dose treatment with albendazole. *J. Neurol. Sci.* **133**, 152–154 (1995).
3. OMS | Teniasis/Cisticercosis. at <<http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs376/es/>> 2015
4. Jung, H., Medina, L., García, L., Fuentes, I. & Moreno-Esparza, R. Absorption studies of albendazole and some physicochemical properties of the drug and its metabolite albendazole sulphoxide. *J Pharm Pharmacol* **50**, 43–48 (1998).
5. Rawden, H. C., Kokwaro, G. O., Ward, S. A. & Edwards, G. Relative contribution of cytochromes P 450 and flavin containing monooxygenases to the metabolism of albendazole by human liver microsomes. *Br. J. Clin. Pharmacol.* **49**, 313–322 (2000).
6. Li, X. Q., Björkman, A., Andersson, T. B., Gustafsson, L. L. & Masimirembwa, C. M. Identification of human cytochrome P450s that metabolise anti-parasitic drugs and predictions of in vivo drug hepatic clearance from in vitro data. *Eur. J. Clin. Pharmacol.* **59**, 429–442 (2003).
7. Jung, H., Hurtado, M., Sanchez, M., Medina, M. T. & Sotelo, J. Clinical pharmacokinetics of albendazole in patients with brain cysticercosis. *J. Clin. Pharmacol.* **32**, 28–31 (1992).
8. Katzung, B. G. in *Farmacología Básica y clínica*. 43 (2010).
9. Lacey, E. Mode of action of benzimidazoles. *Parasitol. Today* **6**, 112–115 (1990).
10. Lacey, E. The role of the cytoskeletal protein, tubulin, in the mode of action and mechanism of drug resistance to benzimidazoles. *International Journal for Parasitology* **18**, 885–936 (1988).
11. Köhler, P. The biochemical basis of anthelmintic action and resistance. *International Journal for Parasitology* **31**, 336–345 (2001).
12. Szejtli, J. Introduction and General Overview of Cyclodextrin Chemistry. *Chem. Rev.* **98**, 1743–1753 (1998).
13. Antoine, V. Fermentation of starch by the butyric ferment. *C. R. Hebd. Seances Acad. Sci.* **112**, 536–538 (1891).

14. Sharding, F. Formation of Crystalline Non-reducing Polysaccharides from Starch by Microbic Action. *Cent. Bakt. Parasitenk* **22**, 98–103 (1909).
15. Freudenberg, K. Methods for determining the constitution of high molecular natural products. *Monatshefte fuer Chemie* **69**, 144–160 (1936).
16. Challa, R., Ahuja, A., Ali, J. & Khar, R. K. Cyclodextrins in drug delivery: an updated review. *AAPS PharmSciTech* **6**, E329–E357 (2005).
17. Pedotti, S. *et al.* Synthesis and physico-chemical characterization of a β -cyclodextrin conjugate for sustained release of Acyclovir. *Carbohydr. Polym.* **131**, 159–167 (2015).
18. Chemistry, C. *et al.* Review : A History of Cyclodextrins Gre g. *Chem. Rev.* **114**, 10940–10975 (2014).
19. Delbianco, M., Bharate, P., Varela-Aramburu, S. & Seeberger, P. H. Carbohydrates in Supramolecular Chemistry. *Chem. Rev.* [acs.chemrev.5b00516](https://doi.org/10.1021/acs.chemrev.5b00516) (2015). doi:10.1021/acs.chemrev.5b00516
20. Harada, A., Hashidzume, A. & Takashima, Y. Cyclodextrin-based supramolecular polymers. *Advances in Polymer Science* **201**, 1–43 (2006).
21. Dodziuk, H. *Edited by Macromolecules Introduction to Macromolecular Science. Probe Microscopy* (2006).
22. Tian, W. *et al.* Cyclodextrin-Based Hyperbranched Polymers: Molecule Design, Synthesis, and Characterization. *Macromolecules* **42**, 640–651 (2009).
23. Schneider, H.-J. *et al.* NMR Studies of Cyclodextrins and Cyclodextrin Complexes. *Chem. Rev.* **98**, 1755–1786 (1998).
24. Duchêne, D., Wouessidjewe, D. & Ponchel, G. Cyclodextrins and carrier systems. *J. Control. Release* **62**, 263–268 (1999).
25. Castillo, J. A. *et al.* Preparation and Characterization of Albendazole β -Cyclodextrin Complexes. *Drug Dev. Ind. Pharm.* **25**, 1241–1248 (1999).
26. Pradines, B. *et al.* Investigation of the complexation of albendazole with cyclodextrins for the design of new antiparasitic formulations. *Carbohydr. Res.* **398**, 50–5 (2014).
27. Namazi, H. & Heydari, A. Synthesis of β -cyclodextrin-based dendrimer as a novel encapsulation agent. *Polym. Int.* **63**, 1447–1455 (2014).
28. Wang, H., Shao, N., Qiao, S. & Cheng, Y. Host-guest chemistry of dendrimer-cyclodextrin conjugates: Selective encapsulations of guests within dendrimer or cyclodextrin cavities revealed by NOE NMR techniques. *J. Phys. Chem. B* **116**, 11217–11224 (2012).
29. Nanjwade, B. K., Bechra, H. M., Derkar, G. K., Manvi, F. V. & Nanjwade, V. K. Dendrimers: Emerging polymers for drug-delivery systems. *Eur. J. Pharm. Sci.* **38**, 185–196 (2009).

30. Newkome, G. R., Moorefield, C. N. & Vogtle, F. *Dendrimers and Dendrons - Concepts, Syntheses, Applications*. (2002).
31. Lee, C. C., MacKay, J. A., Fréchet, J. M. J. & Szoka, F. C. Designing dendrimers for biological applications. *Nat. Biotechnol.* **23**, 1517–26 (2005).
32. Wu, L., Ficker, M., Christensen, J. B., Trohopoulos, P. N. & Moghimi, S. M. Dendrimers in Medicine: Therapeutic Concepts and Pharmaceutical Challenges. *Bioconjug. Chem.* (2015).
33. Buhleier, E., Wehner, W. & Vögtle, F. 'Cascade'- and 'Nonskid-Chain-like' Syntheses of Molecular Cavity Topologies. *Synthesis (Stuttg)*. 155–158 (1978).
34. Newkome, G. R., Yao, Z., Baker, G. R. & Gupta, V. K. Cascade Molecules: A New Approach to Micelles. A [27]-Arborol. *J. Org. Chem* 2003 – 2004 (1985).
35. Tomalia, D. A. *et al.* A new class of polymers: Starburst-dendritic macromolecules. *Polym. J.* **17**, 117–132 (1985).
36. Tomalia, D. a. *Dendrimers and Other Dendritic Polymers. Polymer Recycling* **1**, (2001).
37. Hawker, C. J. & Frechet, J. M. J. Control of surface functionality in the synthesis of dendritic macromolecules using the convergent-growth approach. *Macromolecules* **23**, 4726–4729 (1990).
38. Medina, S. H. & El-Sayed, M. E. H. Dendrimers as carriers for delivery of chemotherapeutic agents. *Chem. Rev.* **109**, 3141–3157 (2009).
39. Gillies, E. R. & Fréchet, J. M. J. Dendrimers and dendritic polymers in drug delivery. *Drug Discov. Today* **10**, 35–43 (2005).
40. Zhu, S. *et al.* PEGylated PAMAM dendrimer-doxorubicin conjugates: In vitro evaluation and in vivo tumor accumulation. *Pharm. Res.* **27**, 161–174 (2010).
41. Quintana, A. *et al.* Design and function of a dendrimer-based therapeutic nanodevice targeted to tumor cells through the folate receptor. *Pharm. Res.* **19**, 1310–1316 (2002).
42. Gupta, U., Agashe, H. B., Asthana, A. & Jain, N. K. Dendrimers: novel polymeric nanoarchitectures for solubility enhancement. *Biomacromolecules* **7**, 649–58 (2006).
43. Kolb, H. C., Finn, M. G. & Sharpless, K. B. Click Chemistry: Diverse Chemical Function from a Few Good Reactions. *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **40**, 2004–2021 (2001).
44. Moses, J. E. & Moorhouse, A. D. The growing applications of click chemistry. *Chem. Soc. Rev.* **36**, 1249–1262 (2007).
45. Huisgen, R., Szeimies, G. & Möbius, L. 1.3-Dipolare Cycloadditionen, XXXII. Kinetik der Additionen organischer Azide an CC-Mehrfachbindungen. *Chem. Ber.* **100**, 2494–2507 (1967).

46. Tornøe, C. W., Christensen, C. & Meldal, M. Peptidotriazoles on Solid Phase: [1,2,3]-Triazoles by Regiospecific Copper(I)-Catalyzed 1,3-Dipolar Cycloadditions of Terminal Alkynes to Azides. *J. Org. Chem.* **67**, 3057–3064 (2002).
47. Rostovtsev, V. V, Green, L. G., Fokin, V. V & Sharpless, K. B. A stepwise Huisgen cycloaddition process: copper(I)-catalyzed regioselective ‘ligation’ of azides and terminal alkynes. *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **41**, 2596–9 (2002).
48. Castro, V., Rodríguez, H. & Albericio, F. CuAAC: An Efficient Click Chemistry Reaction on Solid Phase. *ACS Comb. Sci.* **18**, 1–14 (2016).
49. Meldal, M. & Tornøe, C. W. Cu-catalyzed azide-alkyne cycloaddition. *Chem. Rev.* **108**, 2952–3015 (2008).
50. Binder, W. H. & Sachsenhofer, R. ‘Click’ chemistry in polymer and materials science. *Macromolecular Rapid Communications* **28**, 15–54 (2007).
51. Van Dijk, M., Rijkers, D. T. S., Liskamp, R. M. J., Van Nostrum, C. F. & Hennink, W. E. Synthesis and applications of biomedical and pharmaceutical polymers via click chemistry methodologies. *Bioconjugate Chemistry* **20**, 2001–2016 (2009).
52. Ma, X. & Zhao, Y. Biomedical Applications of Supramolecular Systems Based on Host–Guest Interactions. *Chem. Rev.* **115**, 7794–7839 (2014).
53. Arseneault, M., Wafer, C. & Morin, J.-F. Recent Advances in Click Chemistry Applied to Dendrimer Synthesis. *Molecules* **20**, 9263–9294 (2015).
54. Garcia Fernandez, J. M., Ortiz Mellet, C. & Defaye, J. Glyconanocavities: Cyclodextrins and beyond. in *Journal of Inclusion Phenomena and Macrocyclic Chemistry* (2006). doi:10.1007/s10847-006-9076-3
55. Toomari, Y., Namazi, H. & Entezami, A. A. Fabrication of biodendrimeric β -cyclodextrin via click reaction with potency of anticancer drug delivery agent. *Int. J. Biol. Macromol.* **79**, 883–893 (2015).
56. Moore, J. S. & Stupp, S. I. Room temperature polyesterification. *Macromolecules* **23**, 65–70 (1990).
57. Girard, J. E. *Vogel’s Text book of Practical organic chemistry. Nature* **284**, (1980).
58. Ihre, H., Hult, A., Fréchet, J. M. J. & Gitsov, I. Double-Stage Convergent Approach for the Synthesis of Functionalized Dendritic Aliphatic Polyesters Based on 2,2-Bis(hydroxymethyl)propionic Acid. *Macromolecules* **31**, 4061–4068 (1998).
59. Toomari, Y., Namazi, H. & Akbar, E. A. Synthesis of the dendritic type β -cyclodextrin on primary face via click reaction applicable as drug nanocarrier. *Carbohydr. Polym.* **132**, 205–213 (2015).

60. Kowalczyk, W., Mascaraque, A., Sánchez-Navarro, M., Rojo, J. & Andreu, D. Convergent synthesis of glycodendropeptides by click chemistry approaches. *European J. Org. Chem.* 4565–4573 (2012).
61. Baka, E., Comer, J. E. A. & Takcs-Novik, K. Study of equilibrium solubility measurement by saturation shake-flask method using hydrochlorothiazide as model compound. *J. Pharm. Biomed. Anal.* **46**, 335–341 (2008).
62. Martín L., Universidad Nacional Autónoma de México. Maestría en Ciencia e Ingeniería de materiales. (2015). at <<http://www.mcc.unam.mx/>>