



Universidad de Alcalá

DEPARTAMENTO DE QUÍMICA ORGÁNICA Y QUÍMICA
INORGÁNICA

SÍNTESIS DE MACROMOLÉCULAS DENDRÍTICAS CATIONICAS DE ESTRUCTURA CARBOSILANO Y SUS APLICACIONES EN BIOMEDICINA

DOCTORADO EN QUÍMICA INORGÁNICA MOLECULAR

Memoria presentada en la Universidad de Alcalá para
optar al grado de Doctor en Química por la Licenciada:

M^a ELENA FUENTES PANIAGUA

Realizada bajo la dirección del Dr. Fco. Javier de la Mata
de la Mata y el Dr. Javier Sánchez-Nieves Fernández.

FCO. JAVIER DE LA MATA DE LA MATA, Profesor Titular del Departamento de Química Orgánica y Química Inorgánica de la Universidad de Alcalá y

JAVIER SÁNCHEZ-NIEVES FERNÁNDEZ, Investigador Doctor Contratado por el CIBER BBN en el Departamento de Química Orgánica y Química Inorgánica de la Universidad de Alcalá,

Certifican:

Que la presente Memoria titulada “**Síntesis de macromoléculas dendríticas catiónicas de estructura carbosilano y sus aplicaciones en biomedicina**” ha sido realizada en el Departamento de Química Orgánica y Química Inorgánica de la Universidad de Alcalá con nuestra inmediata dirección e informamos favorablemente y autorizamos su presentación para que sea calificada como Tesis Doctoral.

Alcalá de Henares, a 9 de Enero de 2015.

Fdo. Prof. Dr. Fco. Javier de la Mata
de la Mata

Fdo. Dr. Javier Sánchez-Nieves
Fernández

MANUEL GÓMEZ RUBIO, Catedrático de Universidad y Director del Departamento de Química Orgánica y Química Inorgánica de la Universidad de Alcalá

Certifica:

Que la presente Memoria titulada “**Síntesis de macromoléculas dendríticas catiónicas de estructura carbosilano y sus aplicaciones en biomedicina**” ha sido realizada por la Licenciada M^a Elena Fuentes Paniagua en el Departamento de Química Orgánica y Química Inorgánica de la Universidad de Alcalá y dirigida por el Prof. Dr. Fco. Javier de la Mata de la Mata y por el Dr. Javier Sánchez-Nieves Fernández y da su conformidad para la presentación de la misma como Tesis Doctoral.

Alcalá de Henares, a 9 de Enero de 2015.

Fdo. Prof. Dr. Manuel Gómez Rubio

AGRADECIMIENTOS

Esta tesis sólo podía acabar con grandes agradecimientos a todos los que han compartido de una u otra forma un trocito de ella...

En primer lugar gracias a Javi y Rafa por abrirme las puertas de su grupo hace ya 9 años. Y, por supuesto, por todos los años de paciencia que vinieron después. Os echaré de menos.

A Javier Sánchez-Nieves por haber velado siempre por mí, no tengo palabras para agradecerte todo el tiempo que has empleado para que este trabajo llegue a término... gracias.

A Jose Luis y Giovani por haberme dejado colarme en su laboratorio durante tanto tiempo. A José Manuel por toda la ayuda y la infinita paciencia que tienes y a Ángel porque sin tu música y tus historias todo hubiera sido más aburrido.

A todos los compañeros que han pasado por el grupo BioInDen durante estos años. Muy especialmente a Paula por enseñarme todo lo que sabía y vigilarme en mis primeros pasos. Tampoco podré olvidarme de los que se fueron... a Bea por transmitirme su incansable pasión por la investigación ¡espero que tengas mucha suerte!! A Edu por enseñarme lo valiosas que son las horas de biblioteca y por compartir locuras, incluso la de la vaca deuterada. A Sandra, porque eres todo un ejemplo a seguir. A Marta, gracias por tu amistad, por las reacciones compartidas, por compartir tu sabiduría enseñándome algo nuevo cada día, por ser una persona tan tan buena y tan tan valiosa, ¡eres la mejor! Allá donde vayas triunfarás, ¡estoy segura! Tampoco me olvidaré de los que quedan... gracias Silvia por poner un toque de alegría al grupo, gracias Marta M. por el toque medioambiental, ¡sigue creyendo en ello! y gracias a los compañeros del otro módulo, Cornelia y Carlos, por los ratos compartidos, y a Tania, que se queda solita en el cuarto (de momento)... Y no podría olvidarme de las futuras generaciones, gracias María por darme la oportunidad de conocerte, por los paseos en coche, y a pié, y por las innumerables conversaciones, eres una persona muy especial, suerte en cada proyecto que emprendas ¡seguro que te irá genial! A Gabriel, Noelia, Natalia y Tamara, por poner el toque de juventud que le faltaba al grupo. Y a Yanira por aguantarme tantas tardes en el labo. I would also like to thank Olga for

her gentleness and being always smiley, and Evgeny and Marina for being part of our group, even though it was for such a short period of time, good luck to all of you!

Y un GRACIAS muy grande a mis Químicos y Consortes por compartir tanta química y no química, sois geniales y sin vosotros esto no hubiera tenido sentido. A Alba, por su constante alegría y felicidad y por tener siempre un hueco en Valencia para nosotros. A Andrea que compartió este viaje desde el principio, gracias amiga. A Carlos, porque sin tu toque alcarreño, alemán o lo que sea, nada hubiera sido lo mismo. A Fran, por la ambientación musical en el laboratorio y por demostrarme que eres un gran amigo. A Juanma porque sin personas tan buenas como tú el mundo sería mucho peor. A Fran (módulo II), porque siempre traes el toque de sabiduría que le falta a las comidas. A Jesús (Kechu), por apuntarse casi siempre a jugar con nosotros. A Lorena, porque sin tu sonrisa nada hubiera sido lo mismo, y porque aunque la tradición de paseo y tapas sólo durara dos semanas, siempre encontramos un momento para vernos. A Macarena, porque aunque te fueras lejos, sigues estando muy cerca de nosotros. A Mari por tu generosidad y alegría, ¡y tu excelente comida! Sin ti el barrio sería más aburrido. A Pablo por aceptarme siempre en tus equipos de volley y basket. A Palme, porque es fabuloso poder contar siempre contigo. A Pili, porque aguantar tantas veces la pregunta ¿tú crees que con esto habrá suficiente para análisis? tiene mucho mérito. A Borja, que es todo un señor, porque aunque no vengáis siempre, las veces que venís valen por mil. A Edu por acogernos en su casa y cocinarnos cosas tan maravillosas, además de enseñarnos algún que otro juego. También a Addis y a Cristina, porque aunque no coincidamos siempre ha sido genial compartir con vosotras tantos momentos y alguna que otra inquietud.

Gracias al resto de compañeros y profesores de los departamentos de Química y Microbiología (Jesús, Román, Camino, Vanesa, Irene, Alba...), es imposible nombraros a todos.

Gracias a aquellas personas que conocí por una u otra razón durante este viaje. I would especially like to thank Dr. Maria Bryszewska and Dr. Maksim Ionov for making of a far away place, a wonderful one. Gracias a M^a Ángeles y todos los compañeros del Gregorio por hacer tan divertidas las reuniones y congresos, además de enseñarnos tantas cosas.

Por último, pero no menos importante por ello, gracias a los pilares de mi existencia, porque aunque a veces os hable demasiado de química, siempre me habéis escuchado y hasta he logrado que aprendáis lo que es un dendrímero.

A Elena, porque toda historia tiene un comienzo y la nuestra lo tuvo entre bailes, canciones y juegos de ordenador, y algún que otro Monopoly... Gracias por haber estado siempre ahí, y esta vez no ha sido menos y, porque tú, Alex, César, Nieves y Celso habéis demostrado siempre ser una familia para mí ¡os quiero mucho!

A Marta y Álex, porque ya son muchos años compartidos (de baile, cortos amateur y algún que otro viaje)... Y aunque no podamos vernos todo lo que querríamos, lo importante es que pase el tiempo que pase nos volvemos a ver. Gracias por compartir vuestros sueños conmigo (y escuchar los míos).

A Raquel, porque fue fantástico reencontrarte tras varios años. Espero que todavía veamos muchas pelis de miedo juntas.

A Ming y Ji, porque sin nuestros encuentros de cine y cena los meses pasarían más despacio.

A Carlos por los paseos sin destino por Madrid y a Irene, porque gracias a vosotros valoro el poder de la casualidad.

A Raquel porque siempre tienes un ¿qué tal? para nosotros y a Álex por su serenidad, gracias por estar siempre ahí y ejercer de primos.

A Sandra, David y Estíbaliz, porque habéis hecho de 2014 un año fantástico ¡y la de cosas que nos quedan por hacer!

A Marina y Sergio, porque después de tantas conversaciones no puede acabar así la cosa, así que habrá que seguir quedando.

A Ingrid perché da tanto tempo sei stata una cara amica, mi manchi tanto! E a tutti i compagni dei corsi di italiano per le ore e ore di chiacchierate, birre o qualsiasi cosa.

A Carmen, Eugenio, Natalia y Adri, porque me habéis hecho sentir parte de vuestra familia desde el primer día, ¡sois estupendos!

A mis tíos porque es genial tener una familia como vosotros, gracias Carmela por pensar siempre en nosotros, a Pepe y Camino por habernos llevado siempre a tantos sitios, a José Carlos y Loli por haberme acogido en vuestra casa tantos veranos y a Pili, por llevarnos a Peraleda.

A mis primos Carlos y María, porque aunque estemos lejos, os siento muy cerca. A Daniel y Pablo, porque tenéis un corazón muy grande.

A mi abuela, por ser un referente en nuestras vidas. Gracias por tu paciencia, los paseos por el pueblo y las partidas de cartas, te quiero.

A Sara, porque no se puede desear una hermana mejor (y porque además fuiste tú quien me contagió el interés por la ciencia) y Raúl, porque has sido siempre un hermano más, ¡incluso en nuestra faceta fan por Héroes! A Antonio, por haberme cuidado y haberse preocupado tanto por mí siempre, y Pilar, por los Catanes, las pelis en italiano y demás, ¡gracias!

A mis sobrinos David y Rubén, por sacar siempre lo mejor de mí, y a Pilar, porque estoy deseando verte.

A mis padres, por su paciencia y cariño, sin vosotros nada de esto hubiera sido posible.

A Sergio, porque has emprendido el proyecto más difícil conmigo, aún teniéndolo que compartir con algún que otro fin de semana en el laboratorio. Gracias por existir. Hoy más que nunca “Que se pare el mundo”.

*Aprende como si fueras a vivir toda la vida,
y vive como si fueras a morir mañana.*

(Charles Chaplin)

Índice general

Índice general

ÍNDICE GENERAL.....	i.
ÍNDICE DE ABREVIATURAS Y ACRÓNIMOS.....	xiii.
ÍNDICE DE COMPUESTOS.....	xvii.
PRESENTACIÓN Y OBJETIVOS.....	1
PRESENTACIÓN.....	3
OBJETIVOS.....	4
DISTRIBUCIÓN DE LA MEMORIA.....	5
CAPÍTULO 1: INTRODUCCIÓN.....	7
1.1 DENDRÍMEROS: DEFINICIÓN Y ESTRUCTURA.....	9
1.1.1 Compuestos dendríticos.....	9
1.1.2 Estructura de los dendrímeros.....	10
1.1.3 Estructura de los dendrones.....	12
1.2 PROPIEDADES DE LOS DENDRÍMEROS.....	13
1.3 MÉTODOS DE SÍNTESIS.....	15
1.3.1 Síntesis divergente.....	15
1.3.2 Síntesis convergente.....	16
1.3.3 Métodos mixtos.....	17
1.4 TIPOS DE DENDRÍMEROS.....	19
1.4.1 Tipos de moléculas dendríticas.....	19
1.4.2 Dendrimeros comúnmente utilizados.....	20
1.4.3 Dendrimeros con átomos de silicio.....	24
1.5 TÉCNICAS DE PURIFICACIÓN Y CARACTERIZACIÓN.....	26
1.6 APLICACIONES.....	29
1.7 BIBLIOGRAFÍA.....	35
CAPÍTULO 2: SÍNTESIS DE MACROMOLÉCULAS DENDRÍTICAS CARBOSILANO CATIONICAS.....	45
2.1 INTRODUCCIÓN Y OBJETIVOS.....	47
2.1.1 Moléculas dendríticas cationicas.....	47
2.1.2 Estructuras dendríticas heterofuncionalizadas.....	50
2.1.2.1 Métodos de preparación de estructuras dendríticas heterofuncionalizadas.....	51

2.1.3 Obtención de estructuras dendríticas híbridas.....	54
2.1.4 Estructuras dendríticas de tipo carbosilano.....	57
2.1.4.1 Estrategias sintéticas de obtención de dendrímeros carbosilano catiónicos.....	58
2.1.4.2 Nomenclatura.....	62
2.1.5 Características generales de la caracterización estructural de los compuestos descritos en la presente memoria.....	66
2.1.6 Objetivos del Capítulo 2.....	69
2.2 DENDRÍMEROS FUNCIONALIZADOS POR HIDROSILILACIÓN.....	71
2.2.1 Estudio preparativo de los dendrímeros funcionalizados por hidrosililación.....	71
2.2.1.1 Síntesis de $G_nY(Si-NMe_2)_m$ (1-6).....	71
2.2.1.2 Síntesis de $G_nY(Si-NMe_3^+)_m$ (7-12).....	72
2.2.2 Estudio estructural de los dendrímeros funcionalizados por hidrosililación.....	74
2.2.2.1 Caracterización de $G_nY(Si-NMe_2)_m$ (1-6).....	74
2.2.2.2 Caracterización de $G_nY(Si-NMe_3^+)_m$ (7-12).....	77
2.3 DENDRÍMEROS FUNCIONALIZADOS POR HIDROTIOLACIÓN.....	81
2.3.1 Estudio preparativo de los dendrímeros funcionalizados por hidrotiolación.....	83
2.3.1.1 Síntesis de $G_nY(S-NR_2 \cdot HCl)_m$ (23-35).....	83
2.3.1.2 Síntesis de $G_nY(S-NMe_2)_m$ (36-42).....	85
2.3.1.3 Síntesis de $G_nY(S-NMe_3^+)_m$ (43-49).....	86
2.3.2 Estudio estructural de los dendrímeros funcionalizados por hidrotiolación.....	87
2.3.2.1 Caracterización de $G_nY(S-NR_2 \cdot HCl)_m$ (23-35).....	87
2.3.2.2 Caracterización de $G_nY(S-NMe_2)_m$ (36-42).....	90
2.3.2.3 Caracterización de $G_nY(S-NMe_3^+)_m$ (43-49).....	93
2.4 HETEROFUNCIONALIZACIÓN DE DENDRÍMEROS.....	96
2.4.1 Estudio preparativo de los dendrímeros que contienen fluoresceína.....	97
2.4.1.1 Síntesis de $G_nO_3(S-NH_2)_p(S-NMe_2)_{m-p}$ (58-61).....	97
2.4.1.2 Síntesis de $G_nO_3(NMeFITC)(S-NMe_3^+)_{m-1}$ (66-69).....	99
2.4.2 Estudio estructural de los dendrímeros que contienen fluoresceína.....	101
2.4.2.1 Caracterización de $G_nO_3(S-NH_2)_p(S-NMe_2)_{m-p}$ (58-61).....	101

2.4.2.2 Caracterización de $G_nO_3(NMeFITC)(S-NMe_3^+)_{m-1}$ (66-69).....	105
2.4.3 Estudio preparativo de los dendrímeros que contienen ibuprofeno.....	111
2.4.3.1 Síntesis de $G_2O_3(S-OH)(S-NMe_2)_{11}$ (72).....	112
2.4.3.2 Síntesis de $G_2O_3(OCOibu)(S-NMe_3^+)_{11}$ (74).....	114
2.4.4 Estudio estructural de los dendrímeros que contienen ibuprofeno.....	111
2.4.4.1 Caracterización de $G_2O_3(S-OH)(S-NMe_2)_{11}$ (72).....	115
2.4.4.2 Caracterización de $G_2O_3(OCOibu)(S-NMe_3^+)_{11}$ (74).....	118
2.5 SÍNTESIS DE CUÑAS CON DISTINTOS PUNTOS FOCALES.....	121
2.5.1 Estudio preparativo de dendrones con distintos puntos focales.....	122
2.5.1.1 Síntesis de YG_nV_m (75-86).....	131
2.5.1.2 Síntesis de $YG_n(S-NMe_2)_m$ (99-113).....	126
2.5.1.3 Síntesis de $YG_n(S-NMe_3^+)_m$ (114-128).....	129
2.5.2 Estudio estructural de los dendrones con distintos puntos focales.....	131
2.5.2.1 Caracterización de YG_nV_m (75-86).....	131
2.5.2.2 Caracterización de $YG_n(S-NMe_2)_m$ (99-113).....	137
2.5.2.3 Caracterización de $YG_n(S-NMe_3^+)_m$ (114-128).....	141
2.6 UNIÓN DE MOLÉCULAS DE INTERÉS BIOMÉDICO A DENDRONES CARBOSILANO.....	147
2.6.1 Estudio preparativo de dendrones con fluoresceína en el punto focal.....	148
2.6.1.1 Síntesis de $FITCNMeG_n(S-NMe_3^+)_m$ (131-132).....	148
2.6.2 Estudio estructural de dendrones con fluoresceína en el punto focal.....	149
2.6.2.1 Caracterización de $FITCNMeG_n(S-NMe_3^+)_m$ (131-132).....	149
2.6.3 Estudio preparativo de los dendrones que contienen ibuprofeno en el punto focal.....	153
2.6.3.1 Síntesis de $IbuCO_2G_nV_m$ (133-135).....	153
2.6.3.2 Síntesis de $IbuCO_2G_n(S-NMe_3^+)_m$ (142-144).....	154
2.6.4 Estudio estructural de los dendrones que contienen ibuprofeno en el punto focal.....	156
2.6.4.1 Caracterización de $IbuCO_2G_nV_m$ (133-135).....	156

2.6.4.2 Caracterización de $\text{IbuCO}_2\text{G}_n(\text{S-NMe}_3^+)_m$ (142-144).....	158
2.6.5 Estudio preparativo de los dendrones que contienen penicilina en el punto focal.....	161
2.6.5.1 Síntesis de $\text{PenCO}_2\text{G}_n(\text{Si-NMe}_3^+)_m$ (155-156).....	162
2.6.6 Estudio estructural de los dendrones que contienen penicilina en el punto focal.....	166
2.6.6.1 Caracterización de $\text{PenCO}_2\text{G}_n(\text{Si-NMe}_3^+)_m$ (155-156).....	166
2.7 OBTENCIÓN DE MATERIALES HÍBRIDOS.....	170
2.7.1 Dendrímeros esféricos como plantilla para la formación de nanopartículas metálicas.....	170
2.7.1.1 Estabilización de nanopartículas de oro por $\text{G}_n\text{O}_3(\text{S-NH}_2)_m$ (26n-28n).....	172
2.7.1.2 Reacción de HAuCl_4 con $\text{G}_n\text{O}_3(\text{S-NMe}_3^+)_m$ (47-48)....	174
2.7.1.3 Reacción de HAuCl_4 con $\text{G}_n\text{O}_3(\text{S-NMe}_2)_m$ (40-41).....	175
2.7.2 Dendronización de otras estructuras dendríticas.....	175
2.7.2.1 Obtención de estructuras dendríticas híbridas carbosilano-glicodendrímeros PPI.....	175
2.7.2.2 Obtención de estructuras dendríticas híbridas carbosilano-dendrímeros con átomos de fósforo.....	176
2.7.3 Dendronización de nanopartículas poliméricas de ácido poliláctico.....	178
2.7.4 Dendronización de nanopartículas de sílice mesoporosa.....	179
2.8 BIBLIOGRAFÍA.....	182
CAPÍTULO 3: APLICACIONES BIOMÉDICAS DE LAS MACROMOLÉCULAS DENDRÍTICAS CATIONICAS.....	191
3.1 INTRODUCCIÓN Y OBJETIVOS.....	193
3.1.1 Dendrímeros catiónicos en aplicaciones biomédicas.....	193
3.1.2 Dendrímeros catiónicos como agentes terapéuticos.....	193
3.1.2.1 Dendrímeros catiónicos como agentes antibacterianos.....	194
3.1.2.2 Dendrímeros de tipo carbosilano como agentes antibacterianos.....	197
3.1.3 Dendrímeros catiónicos como agentes de transporte.....	198
3.1.3.1 Agentes de transporte de material nucleico.....	198
3.1.3.2 Dendrímeros como agentes de transporte no viral.....	202

3.1.3.3 Agentes de transporte de fármacos.....	206
3.1.3.4 Agentes de transporte de péptidos.....	209
3.1.4 Objetivos del Capítulo 3.....	210
3.2 DENDRÍMEROS CATIÓNICOS COMO ANTIBACTERIANOS Y ANTIPARASITARIOS.....	211
3.2.1 Actividad antibacteriana.....	211
3.2.1.1 Actividad antibacteriana de dendrímeros carboxilano catiónicos.....	213
3.2.1.2 Efecto del pH y de la temperatura en la actividad antibacteriana.....	216
3.2.1.3 Actividad antibacteriana de dendrones carboxilano catiónicos.....	219
3.2.1.4 Actividad antibacteriana de $\text{PenCO}_2\text{G}_2(\text{Si-NMe}_3^+)_4$ (156).....	221
3.2.1.5 Actividad hemolítica.....	224
3.2.1.6 Ensayo de generación de resistencias.....	226
3.2.1.7 Actividad frente a bacterias resistentes.....	227
3.2.2 Utilización como agentes leishmanicidas.....	230
3.2.3 Utilización como agentes amebicidas.....	232
3.2.3.1 Selectividad frente a trofozoitos.....	232
3.2.3.2 Actividad frente a quistes.....	234
3.2.4 Conclusiones del apartado.....	234
3.3 DENDRÍMEROS CATIÓNICOS COMO AGENTES DE TRANSFECCIÓN.....	236
3.3.1 Agentes de transfección contra el VIH.....	236
3.3.1.1 Ensayos de viabilidad celular.....	236
3.3.1.3 Estabilidad de los nanoconjugados dendrímero-siNEF frente a heparina.....	243
3.3.1.4 Biocompatibilidad de los nanoconjugados dendrímero siNEF.....	244
3.3.1.5 Ensayos de inhibición del VIH por los nanonconjugados dendrímero-siNEF.....	245
3.3.2 Agentes de transfección frente a cáncer.....	246
3.3.2.1 Estudios de la capacidad antitumoral <i>in vitro</i>	247
3.3.2.2 Estudio de la capacidad antitumoral <i>in vivo</i>	248
3.3.3 Conclusiones del apartado.....	249

3.4 DENDRÍMEROS CATIÓNICOS COMO COMPONENTES DE NANOVCUNAS.....	250
3.4.1 Polarización de fluorescencia.....	251
3.4.2 Potencial ζ	254
3.4.3 Dicroísmo circular (DC).....	256
3.4.4 Conclusiones del apartado.....	259
3.5 MATERIALES DENDRONIZADOS COMO AGENTES DE TRANSPORTE DE MATERIAL NUCLEICO.....	260
3.5.1 Nanopartículas de sílice mesoporosa como agentes de transfección frente al VIH.....	260
3.5.2 Nanopartículas de ácido poli(láctico-co-glicólico) como agentes de transfección frente a adrenoleucodistrofia.....	262
3.5.3 Conclusiones del apartado.....	263
3.6 BIODISTRIBUCIÓN DE LOS DENDRÍMEROS CARBOSILANO CATIÓNICOS.....	264
3.6.1 Biodistribución <i>in vivo</i> del dendrímero 67	264
3.6.2 Biodistribución <i>in vivo</i> del nanoconjugado siNEF/ 67	266
3.6.3 Conclusiones del apartado.....	268
3.7 BIBLIOGRAFÍA.....	269
CAPÍTULO 4: PARTE EXPERIMENTAL.....	277
4.1 CONDICIONES GENERALES DE TRABAJO.....	279
4.2 MATERIALES UTILIZADOS.....	279
4.3 TÉCNICAS INSTRUMENTALES.....	281
4.4 ENSAYOS BIOMÉDICOS DE LAS MACROMOLÉCULAS DENDRÍTICAS COMO AGENTES ANTIBACTERIANOS.....	286
4.5 DESCRIPCIÓN DE LAS PREPARACIONES.....	289
4.5.1 Métodos sintéticos.....	289
4.5.1.1 Método sintético 1: Hidrosililación.....	289
4.5.1.2 Método sintético 2: Alquenilación de dendrímeros y dendrones que contienen grupos $-\text{SiMeCl}_2$ con haluros de alquil magnesio.....	290
4.5.1.3 Método sintético 3: Sustitución de grupos $-\text{Cl}$ por $-\text{H}$ en dendrímeros y dendrones que contienen grupos $-\text{SiMe}_2\text{Cl}$ terminales.....	290

4.5.1.4 Método sintético 4: Síntesis de dendrímeros y dendrones catiónicos por adición de MeI a macromoléculas que contienen grupos $-NMe_2$ terminales.....	291
4.5.1.5 Método sintético 5: Acoplamiento de dendrones con bromo en el punto focal a 1,3,5-trihidroxibenceno.....	291
4.5.1.6 Método sintético 6: Hidrotiolación de dobles enlaces.....	292
4.5.1.7 Método sintético 7: Desprotonación de los grupos $-NR_2 \cdot HCl$	293
4.5.1.8 Método sintético 8: Adición de fluoresceína a aminas primarias y posterior cuaternización de los grupos $-NMe_2$	293
4.5.2 Síntesis y caracterización de los derivados dendríticos.....	
4.5.2.1 Dendrímeros con grupos $-NMe_2$ sintetizados por hidrosililación (1-6).....	294
4.5.2.2 Dendrímeros con grupos $-NMe_3^+$ sintetizados por hidrosililación (7-12).....	297
4.5.2.3 Cuña de cuarta generación con grupos $-SiMeCl_2$ terminales (13).....	301
4.5.2.4 Dendrímero de cuarta generación con grupos $-SiMeCl_2$ terminales (14).....	301
4.5.2.5 Cuñas dendríticas con bromo en el punto focal y grupos vinilo terminales (15-18).....	302
4.5.2.6 Dendrímeros con grupos vinilo terminales (19-22).....	304
4.5.2.7 Dendrímeros con grupos $-NR_2H^+$ terminales obtenidos por hidrotiolación (23-35).....	306
4.5.2.8 Dendrímeros con grupos $-NMe_2$ terminales obtenidos por hidrotiolación (36-42).....	312
4.5.2.9 Dendrímeros con grupos $-NMe_3^+$ terminales obtenidos por hidrotiolación (43-49).....	316
4.5.2.10 Dendrímeros con grupos vinilo y $-NH_3^+$ terminales (50-53).....	320
4.5.2.11 Dendrímeros heterofuncionalizados con grupos $-NMe_3^+$ y $-NH_3^+$ obtenidos por hidrotiolación (54-57).....	322
4.5.2.12 Dendrímeros heterofuncionalizados con grupos $-NMe_2$ y $-NH_2$ obtenidos por hidrotiolación (58-61).....	326

4.5.2.13 Dendrímeros heterofuncionalizados con grupos – NMe ₃ ⁺ y un grupo fluoresceína obtenidos por hidrotiolación (66-69).....	330
4.5.2.14 Dendrímero heterofuncionalizado G ₂ O ₃ (S-OH)V ₁₁ (70).....	332
4.5.2.15 Dendrímero heterofuncionalizado G ₂ O ₃ (S-OH)(S- NMe ₂ ·HCl) ₁₁ (71).....	72
4.5.2.16 Dendrímero heterofuncionalizado G ₂ O ₃ (S-OH)(S- NMe ₂) ₁₁ (72).....	334
4.5.2.17 Dendrímero heterofuncionalizado G ₂ O ₃ (OCOibu)(S-NMe ₂) ₁₁ (73).....	334
4.5.2.18 Dendrímero heterofuncionalizado G ₂ O ₃ (OCOibu)(S-NMe ₃ ⁺ I) ₁₁ (74).....	335
4.5.2.19 Dendrones con azida en el punto focal y grupos vinilo periféricos (75-77).....	336
4.5.2.20 Dendrones con ftalimida en el punto focal y grupos vinilo periféricos (78-80).....	338
4.5.2.21 Dendrones con un grupo fenol en el punto focal y grupos vinilo periféricos (81-83).....	340
4.5.2.22 Dendrones con un grupo alcohol en el punto focal y grupos vinilo periféricos (84-86).....	342
4.5.2.24 Dendrones con distintos puntos focales y grupos –NMe ₂ ·HCl periféricos (87-98).....	344
4.5.2.25 Dendrones con distintos puntos focales y grupos –NMe ₂ terminales (99-110).....	351
4.5.2.26 Dendrones con grupos –NMe ₂ terminales y un grupo amino primario en el punto focal (111-113).....	358
4.5.2.27 Dendrones con grupos –NMe ₃ ⁺ terminales y distintos grupos funcionales en el punto focal (114-125).....	360
4.5.2.28 Dendrones con grupos –NMe ₃ ⁺ terminales y un grupo amonio primario en el punto focal (126-128).....	368
4.5.2.29 Dendrones con fluoresceína en el punto focal (131-132)	370
4.5.2.30 Dendrones con ibuprofeno en el punto focal y grupos vinilo periféricos (133-135).....	371
4.5.2.31 Dendrones con ibuprofeno en el punto focal y grupos –NMe ₂ ·HCl periféricos (136-138).....	374

4.5.2.32 Dendrones con ibuprofeno en el punto focal y grupos $-NMe_2$ periféricos (139-141).....	376
4.5.2.33 Dendrones con ibuprofeno en el punto focal y grupos $-NMe_3^+$ periféricos (142-144).....	378
4.5.2.34 Cuña dendrítica con cloro en el punto focal y grupos $-SiMeCl_2$ terminales $ClG_2(SiCl_2)_2$ (145).....	380
4.5.2.35 Cuña dendrítica con cloro en el punto focal y cuatro grupos alilo terminales ClG_2A_4 (146).....	381
4.5.2.36 Cuñas dendríticas con cloro en el punto focal y grupos $-SiMe_2Cl$ terminales (147-148).....	382
4.5.2.37 Cuñas dendríticas con cloro en el punto focal y grupos $-SiMe_2H$ terminales (149-150).....	383
4.5.2.38 Cuñas dendríticas con cloro en el punto focal y grupos $-NMe_2$ terminales (151-152).....	384
4.5.2.39 Cuñas dendríticas con cloro en el punto focal y grupos $-NMe_3^+$ terminales (153-154).....	385
4.5.2.40 Cuñas dendríticas con penicilina en el punto focal y grupos $-NMe_3^+$ terminales (155-156).....	386
4.5.2.41 Cuña ClG_2V_4 (157).....	388
4.5.2.42 Cuña $ClG_2(S-NMe_2 \cdot HCl)_4$ (158).....	388
4.5.2.43 Cuña $ClG_2(S \cdot NMe_2)_4$ (159).....	389
4.5.2.44 Cuña $ClG_2(S-NMe_3^+)_4$ (160).....	
4.5.2.45 Nanopartículas de oro estabilizadas por $G_nO_3(S-NH_2)_m$ (Au-27n y Au-28n).....	390
4.6 BIBLIOGRAFÍA.....	392
CAPÍTULO 5: CONCLUSIONES.....	393
CAPÍTULO 6: SUMMARY AND CONCLUSIONS.....	401
6.1 INTRODUCTION.....	403
6.2 RESULTS AND DISCUSSION.....	404
6.2.1 Synthesis of homofunctionalized cationic dendrimers.....	404
6.2.2 Synthesis of heterofunctionalized cationic dendrimers.....	406
6.2.3 Synthesis of dendrons with different focal points.....	408
6.2.4 Synthesis of dendrones with fragments of biological interest as a focal point.....	410
6.2.5 Dendrimers as templating agents.....	414
6.2.6 Hybrid materials from dendritic systems.....	415

6.2.7 Microbicidal activity.....	417
6.2.7.1 Antibacterial activity.....	417
6.2.7.2 Microbicidal activity against other agents.....	422
6.2.8 Dendrimers as transfection agents.....	423
6.2.8.1 Trasfection agents against HIV.....	423
6.2.8.2 Trasfection agents against melanoma.....	424
6.2.9 Dendrimers as non viral vectors in inmunotherapy.....	426
6.2.10 Dendronized materials as non viral vectors.....	427
6.2.11 Biodistribution study of a carbosilane dendrimer.....	428
6.3 CONCLUSIONS.....	429
6.4 BIBLIOGRAPHY.....	433

Índice de abreviaturas y acrónimos

A continuación se muestra una ordenación alfabética de los acrónimos y abreviaturas que aparecerán a lo largo de esta Memoria, con el fin de facilitar la comprensión de los capítulos, tablas, esquemas y figuras incluidos en ella.

Abreviatura o acrónimo	Nombre completo
18C6	18-corona-6
Δ	Desplazamiento químico (RMN)
λ	Longitud de onda
ν	Número de onda
[]	Concentración
A	Absorbancia, Alilo
Aa	Aminoácidos
Ac	Acetilo
ac	Disolución acuosa
<i>A. polyphaga</i>	<i>Acanthamoeba polyphaga</i>
ADN, ADNp	Ácido desoxirribonucleico, ácido desoxirribonucleico plasmídico
AFM	Microscopía de fuerza atómica
Ar	Aromático
ARN, ARNm	Ácido ribonucleico, ácido ribonucleico mensajero
ARNdc, dsARN	Ácido ribonucleico de doble cadena
ARNpi, siARN	Ácido ribonucleico pequeño de interferencia
AZT	Zidovudina (antiviral VIH)
Boc	<i>tert</i> -Butiloxicarbonilo
BOP	Hexafluorofosfato de (benzotriazol-1-iloxi)tris(dimetilamino) fosfonio
Calc. /exp.	Calculado / Experimental
CBS	Carbosilano
CD4	Glicoproteína expresada por algunas células T y células dendríticas
Cel.	Células
CMB	Concentración mínima bactericida
CMI, CMI_n	Concentración mínima inhibitoria, Concentración mínima inhibitoria tras n días de tratamiento
CMSP	Células mononucleares de sangre periférica
Col.	Colaboradores
Cy	Cianina
d	Doblete
D	Coefficiente de difusión, dimensión
DC	Dicroísmo circular

Abreviatura o acrónimo	Nombre completo
DC-Chol	3 β [N-(N', N'-Dimetilaminoetano)-Carbamoil] Colesterol
Dcha.	Derecha
DLS	Dispersión de luz dinámica
DMAP	4-Dimetilaminopiridina
DMF	N,N-Dimetilformamida
DMPA	2,2-Dimetoxi-2-fenilacetofenona
DMSO	Dimetilsulfóxido
DOSY	Espectroscopía de difusión ordenada (RMN)
<i>E. coli</i>	<i>Escherichia coli</i>
EDCI	N-(3-dimetilaminopropil)-N'-etilcarbodiimida
EM	Espectrometría de masas
EPR	Permeabilidad y retención incrementadas (del inglés Enhanced Permeation and Retention)
Eq.	Equivalente
ESI	Ionización por electrospray (EM)
<i>et al.</i>	Y colaboradores
Et	Etilo
F	Fluorescencia
FDA	Administración de Alimentación y Salud Americana
FITC	Isotiocianato de fluoresceína y sus derivados
F_n	Número de grupos funcionales que emanan del núcleo
F_r	Número de ramas que emanan en cada ramificación
FTIR	Espectroscopía infrarroja con transformada de Fourier
GL	Glicodendrímico
G_n	Generación
Gp120, Gp160	Glicoproteínas de la envuelta del VIH
GPC	Cromatografía de exclusión por tamaños
H_n	Concentración de compuesto que produce el n % de hemolisis
HeLa	Línea celular derivada de cáncer de cérvix
HepG2	Hepatocarcinoma humano
HMBC	Experimento de correlación heteronuclear a larga distancia (RMN)
HOS	Células osteoblásticas de humano
HSQC	Experimento de correlación heteronuclear con quantum único (RMN)
Ibu	S-(+)-Ibuprofeno
IC_n	Concentración necesaria para inhibir un n % el crecimiento
IR	Infrarrojo
IT	Índice terapéutico
Izq.	Izquierda
J	Constante de acoplamiento
<i>L. Infantum</i>	<i>Leishmania Infantum</i>
m	Multiplete, masa
m/z	Relación masa/carga

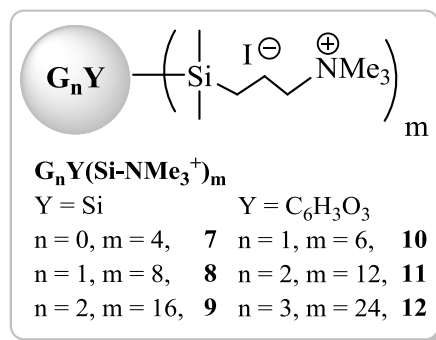
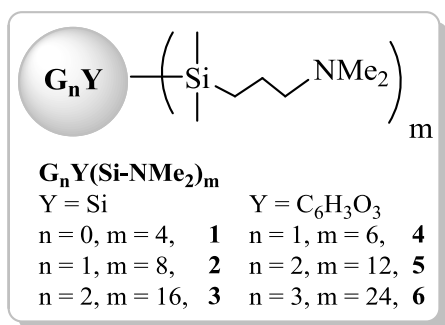
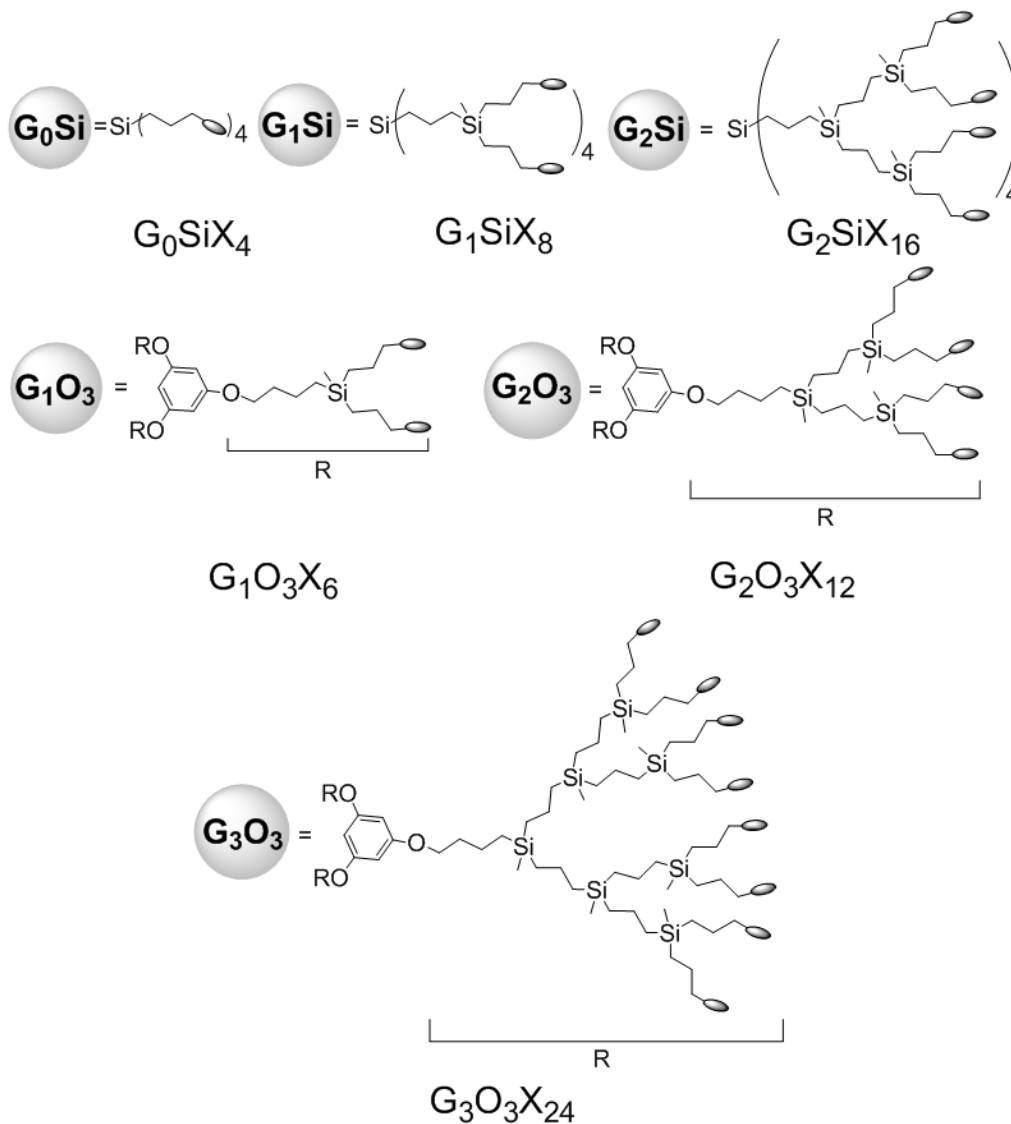
Abreviatura o acrónimo	Nombre completo
MALDI	Desorción/ionización láser asistida por matriz (EM)
máx	Máxima
MDA5	Gen asociado diferenciador de melanoma
Me	Metilo
MH	Agar Mueller-Hinton
MSNP	Nanopartículas de sílice mesoporosa
MTT	Bromuro de (3-(4,5-Dimetiltiazol-2-il)-2,5-difeniltetrazolio
MW, MWCO	Masa molecular, límite de corte en masa molecular
N_{gf}	Número de grupos funcionales en la periferia dendrítica
N^o	Número
Nef, NEF	Proteína del VIH, gen que codifica a Nef
NP	Nanopartícula
O₃	Dendrímeros derivados de 1,3,5-trihidroxibenceno
ODN	Oligonucleótido
pIC	Polímero de poli-inosina/acido policitidílico
P24	Proteína de la cápside del VIH
p	Periferia dendrítica
P	Polarización
PAMAM, QPAMAM	Poliamidoamino, poliamiodamino cuaternizado
PBP	Proteína capaz de unirse a penicilina
PBS	Disolución tampón salina de fosfatos
PCA	Recuento en placa agar (medio de cultivo)
PEG	Polietilenglicol
PEI	Polietilenimina
Pen	Penicilina y derivados
PEO	Poli(óxido de etileno)
pH	Logaritmo negativo de la concentración de H ⁺
Pht	Ftalimida
pK_a	Logaritmo negativo de la constante de acidez
PLE	Esterasas de hígado de cerdo (del inglés Porcine Liver Sterase)
PLGA	Ácido poli(láctico-co-glicólico)
pNCF	Cloruro de p-nitrobenzoilo
POMAM	Dendrímero híbrido entre PAMAM y PPI
PPI	Polipropilenimina
ppm	Partes por millón
[Pt]	Catalizador de Karsted
PTA	1,3,5-Triaza-7-fofatriciclo[3.3.1.1]decano
Pyr	Piridina
Q_p, Q_n	Carga positiva, carga negativa
R	Radical alquilo
r_h	Radio hidrodinámico
RAW264.7	Línea celular de macrófagos de ratón
RMN	Resonancia Magnética Nuclear

Abreviatura o acrónimo	Nombre completo
rpm	Revoluciones por minuto
RSP	Resonancia de plasmón
<i>S. aureus</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>
SBF	Suero bovino fetal
SDS	Dodecil sulfato sódico
SEC	Cromatografía de exclusión por tamaños
SEM	Microscopía electrónica de barrido
Si	Dendrímeros derivados de tetracloruro de silicio
Sida	Síndrome de Inmunodeficiencia Adquirida
SK-MeI-103	Línea tumoral muy agresiva
t	Tiempo, triplete
T, t. a.	Temperatura, temperatura ambiente
T20	Enfuvirtida (antiviral VIH)
TBA	4-Tiobutilamidina
TEM	Microscopía de transmisión electrónica
TGA	Análisis termogravimétrico
THF	Tetrahidrofurano
TOCSY	Espectroscopía de correlación total (RMN)
TOF	Tiempo de vuelo (EM)
u. a.	Unidades de absorbancia, unidades arbitrarias
UFC	Unidades formadas de colonia
uma	Unidad de masa atómica
UV-Vis	Ultravioleta-visible
V	Volumen, Vinilo
VIH	Virus de la Inmunodeficiencia Humana
X	Grupo funcional periférico
Y	Núcleo dendrítico o punto focal
z	Carga

Índice de compuestos

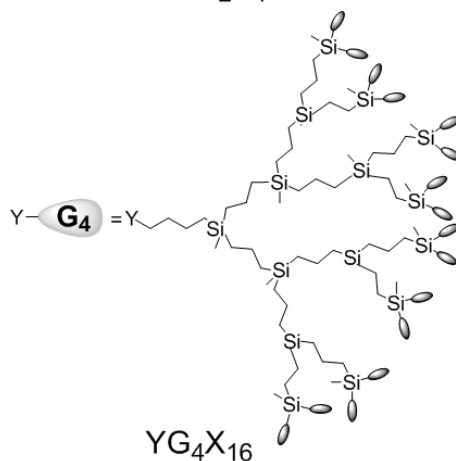
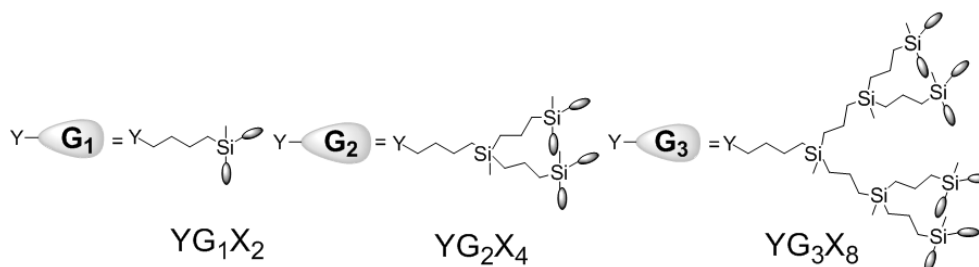
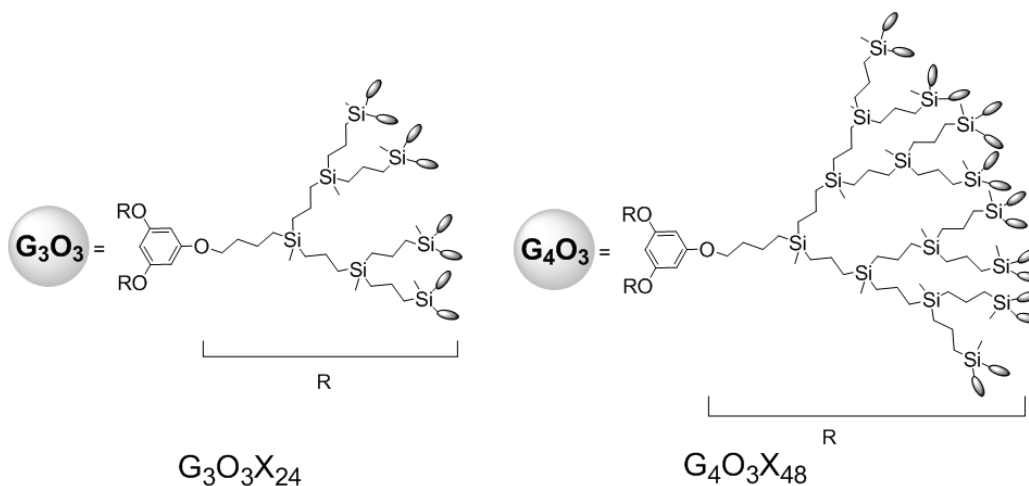
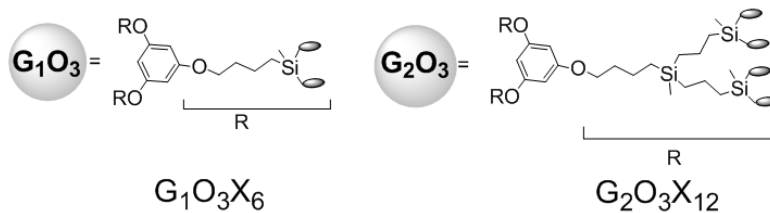
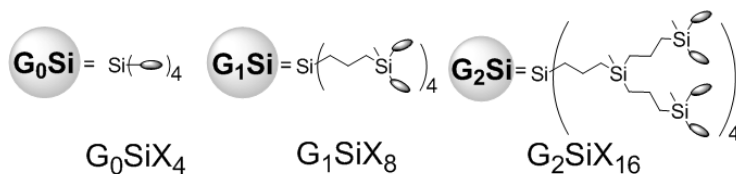
Compuestos descritos en el apartado 2.2

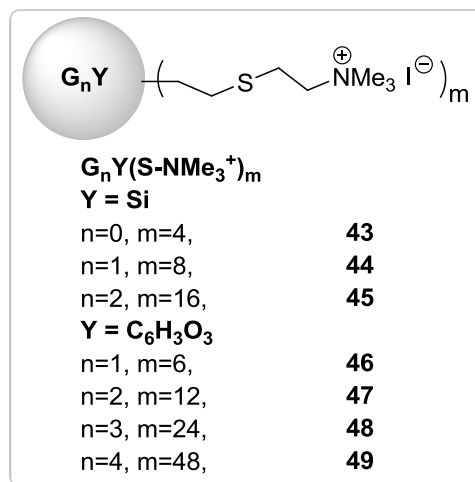
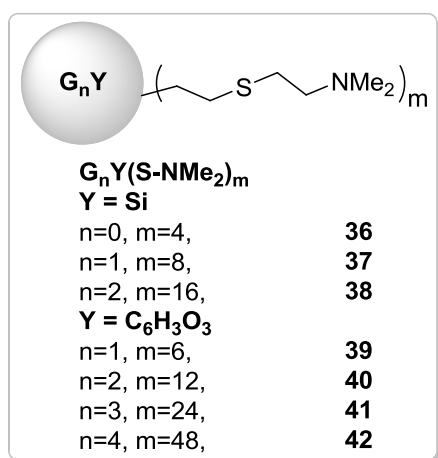
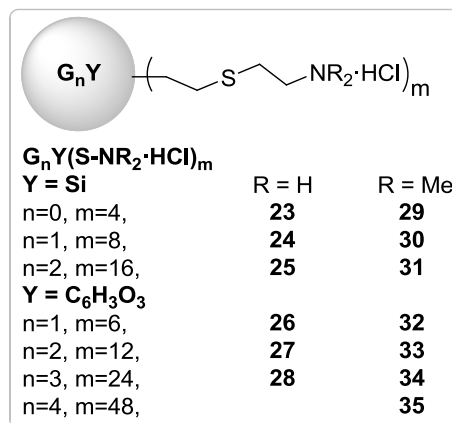
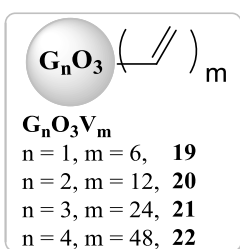
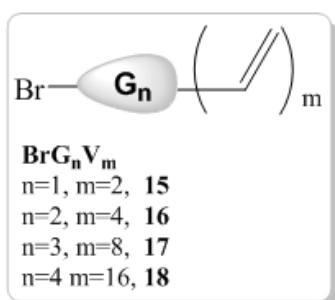
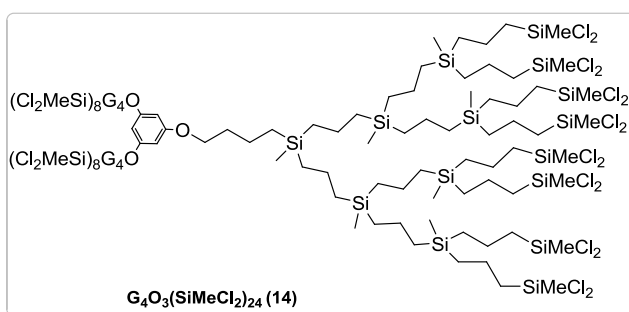
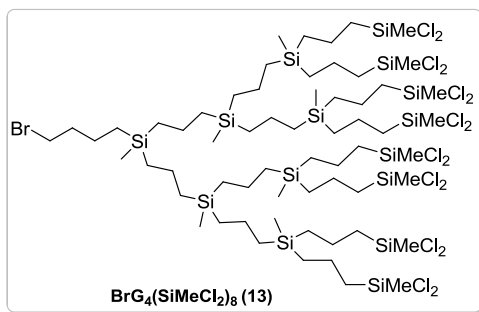
Dendrímeros catiónicos obtenidos por hidrosililación



Compuestos descritos en el apartado 2.3

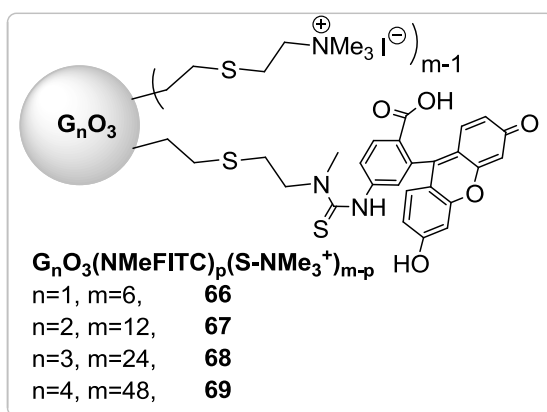
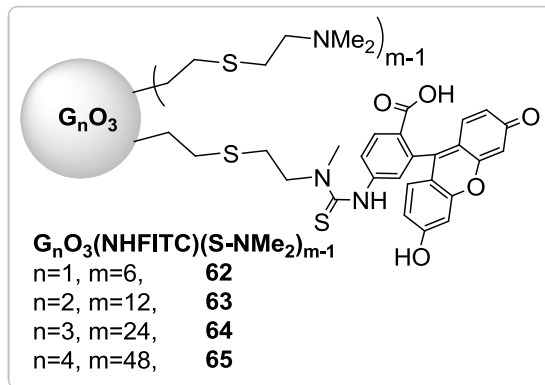
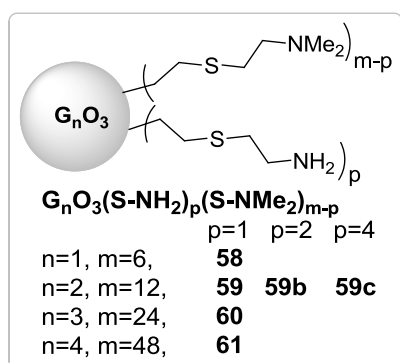
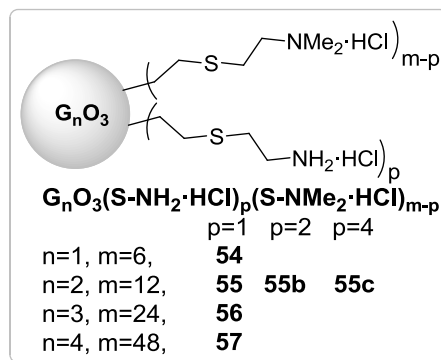
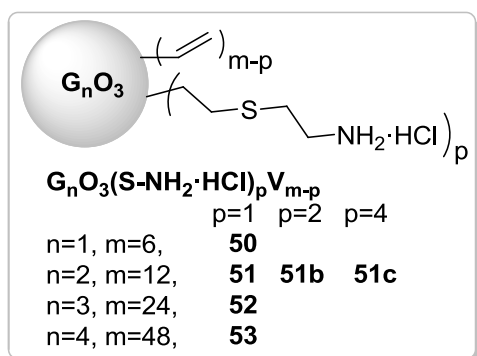
Dendrímeros catiónicos obtenidos por adición tiol-eno



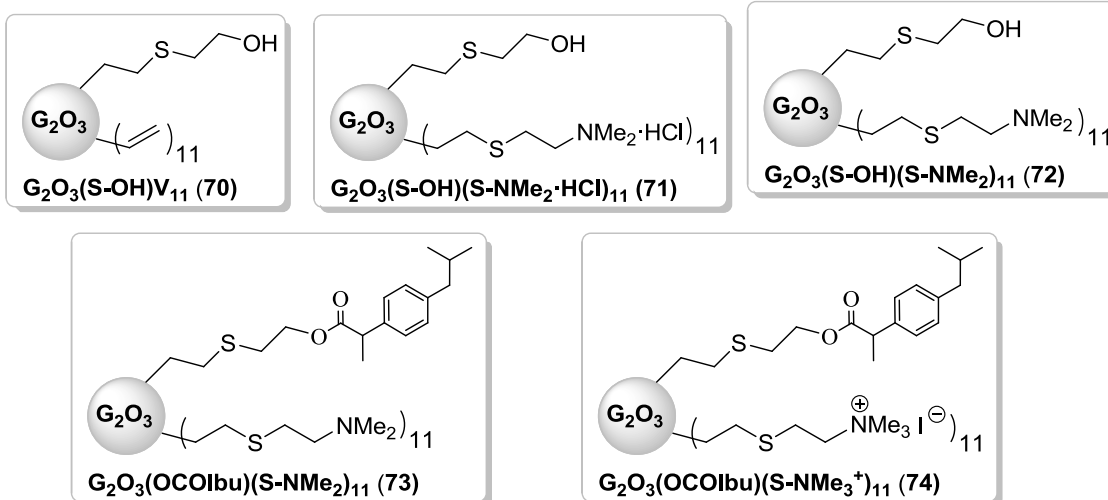


Compuestos descritos en el apartado 2.4

Dendrímeros heterofuncionalizados con fluoresceína isotiocianato

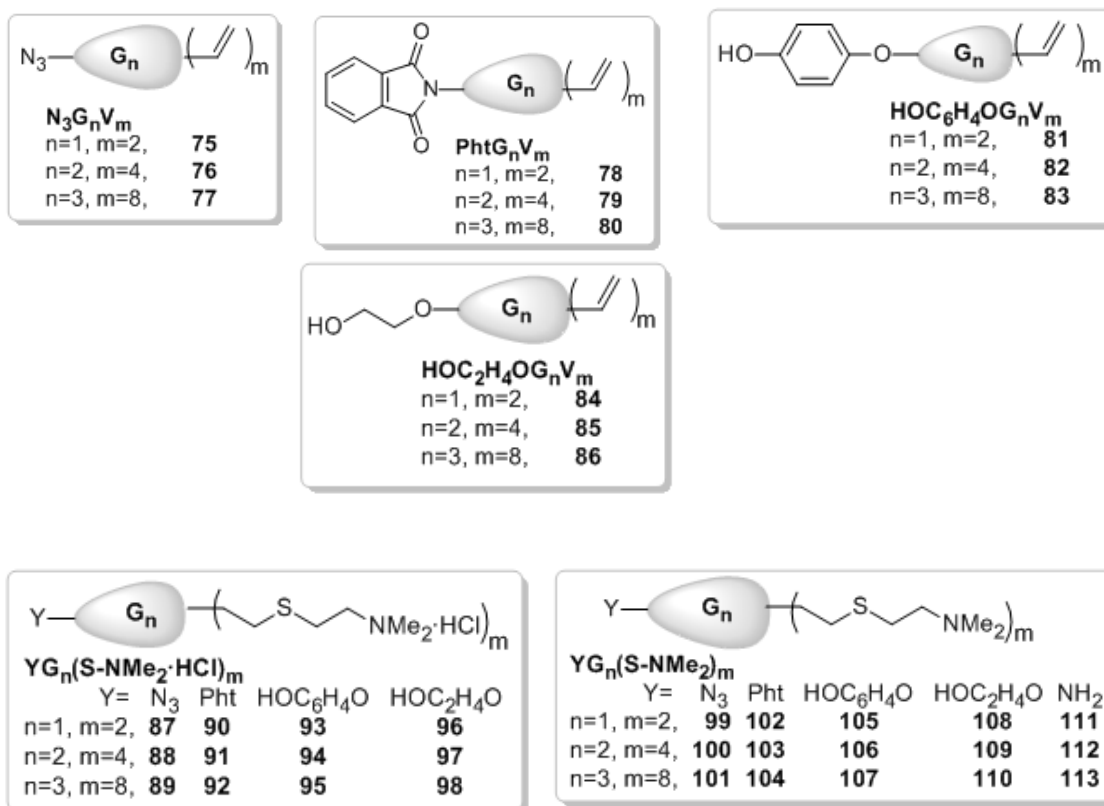


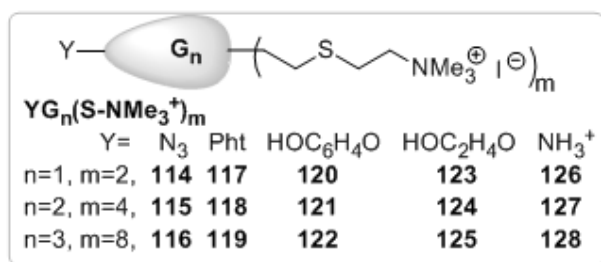
Dendrimeros heterofuncionalizados con ibuprofeno



Compuestos descritos en el apartado 2.5

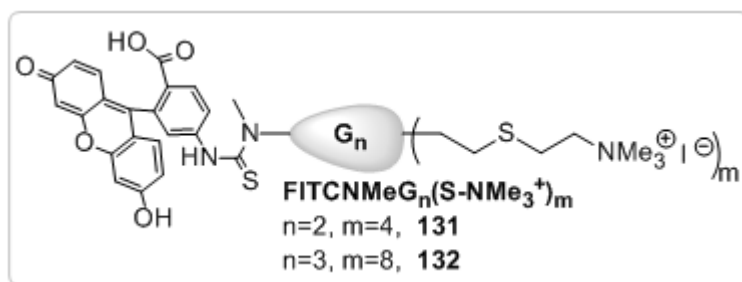
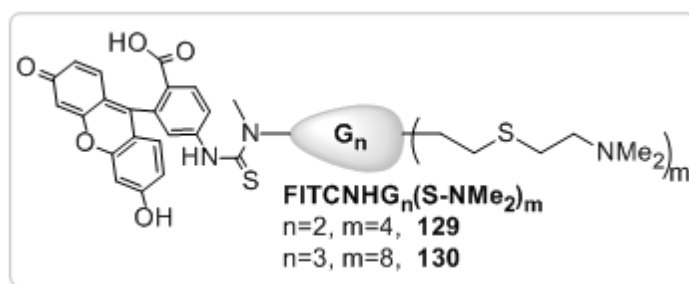
Cuñas con distintos puntos focales



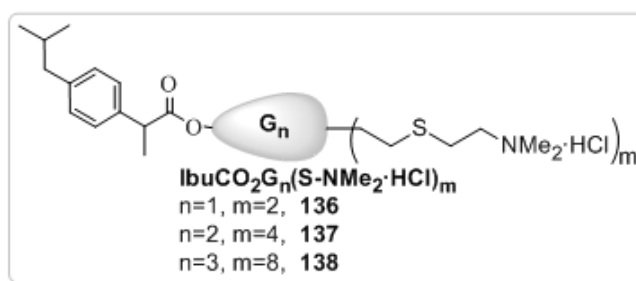
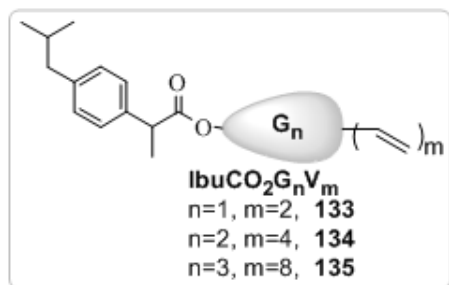


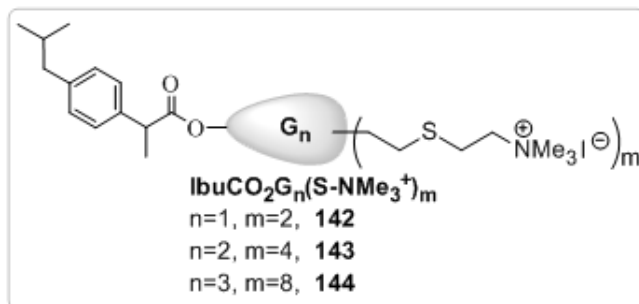
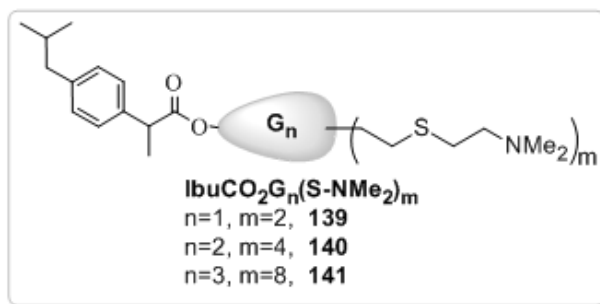
Compuestos descritos en el apartado 2.6

Cuñas con fluoresceína isotiocianato en el punto focal

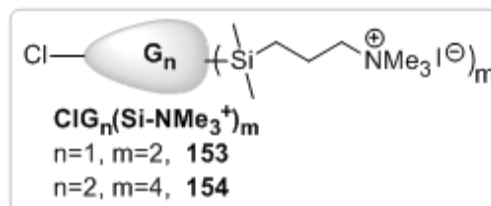
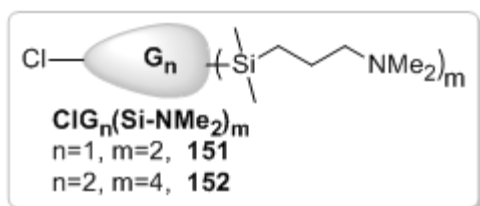
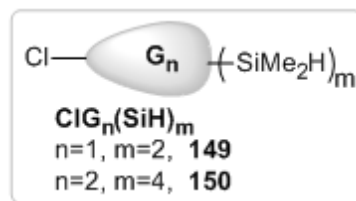
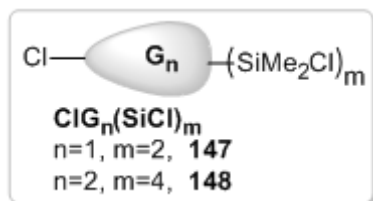
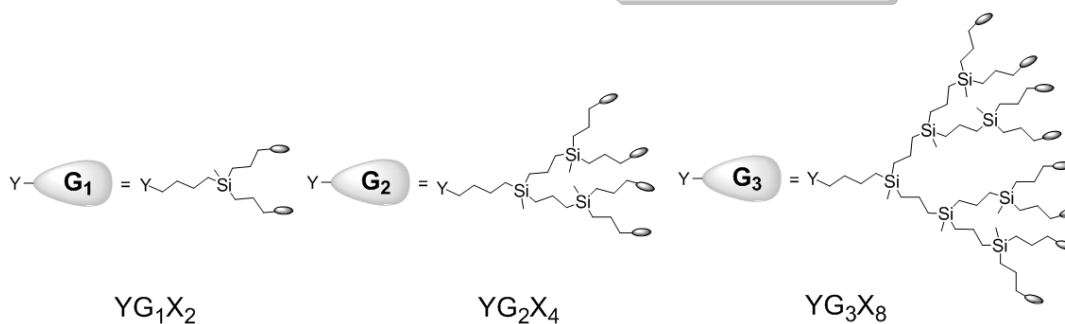
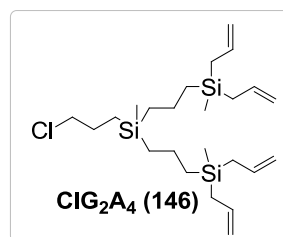
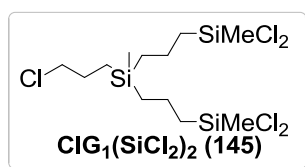


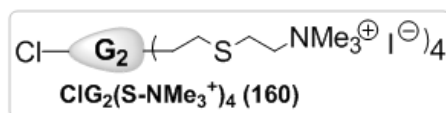
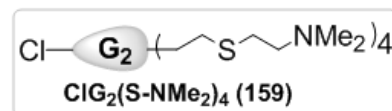
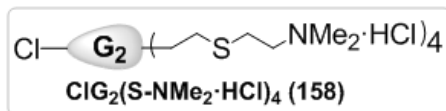
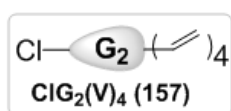
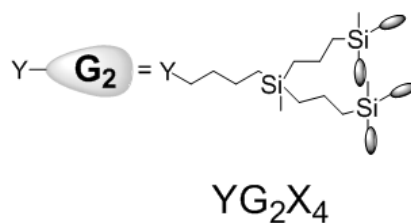
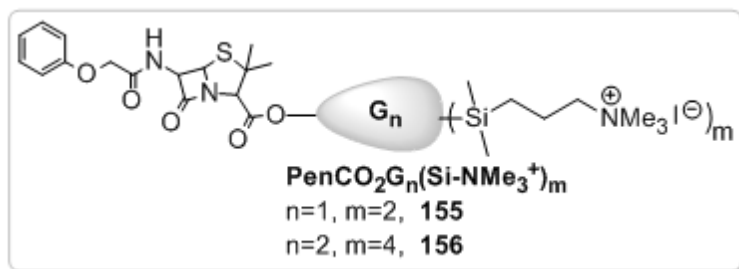
Cuñas con ibuprofeno en el punto focal





Cuñas con penicilina V en el punto focal





Presentación y objetivos

Presentación

A partir de los años 80 surgió un gran interés en la obtención de un tipo de macromoléculas poliméricas, de forma globular y tamaño bien definido, denominadas dendrímeros. El interés por dichas moléculas se produjo debido a la posibilidad de situar muchos grupos funcionales cercanos, además de a su monodispersidad, en contraposición a los polímeros tradicionales. Este tipo de compuestos ha atraído la atención tanto de la investigación básica como de la investigación orientada a aplicaciones tecnológicas. Por ello, nuestro grupo de investigación lleva un tiempo centrando sus esfuerzos en el desarrollo de nuevos sistemas dendríticos de estructura carbosilano, cuyo esqueleto contiene enlaces Si-C y C-C, que posean aplicaciones en el ámbito de la biomedicina. En concreto, a través de la introducción de grupos cargados positivamente en la periferia dendrítica se ha avanzado hacia la preparación de compuestos con actividad biocida, así como agentes de transporte no viral de ácidos nucleicos y como transportadores de fármacos.

El trabajo recogido en esta Tesis Doctoral explora la reacción de adición tiol-eno como estrategia sintética capaz tanto de mejorar la preparación de dendrímeros esféricos catiónicos, análogos a los anteriormente descritos en nuestro grupo de investigación, como de abrir la puerta a generar nuevos sistemas dendríticos en los que se pueda combinar la acción de la estructura dendrítica con la de otros compuestos de interés. Este trabajo es fruto de un proyecto de investigación del grupo BioInDen de la Universidad de Alcalá, en el que han colaborado el departamento de Departamento de Biomedicina y Biotecnología de la Universidad de Alcalá, el grupo de Inmunobiología del Hospital General Universitario Gregorio Marañón (Madrid), el Departamento de Biofísica de la Universidad de Łódz (Polonia), el departamento de Tecnología y Biónica de la Universidad de Rhine Waal (Alemania), el grupo de Melanoma del Centro Nacional de Investigaciones Oncológicas (Madrid), el Departamento de Toxicología de la Universidad de León (Castilla y León), el Departamento de Química Inorgánica y Bioinorgánica de la Universidad Complutense de Madrid

(Madrid) y el grupo de Química Coloidal e Interfacial del Instituto de Química Avanzada de Cataluña (Barcelona).

Objetivos

Nuestro grupo de investigación posee una amplia experiencia en la síntesis de dendrímeros catiónicos de estructura carbosilano solubles en disolución acuosa y su aplicación en diversos campos de la biomedicina. Este hecho junto con estrategias sintéticas, como la denominada adición tiol-eno, englobada en lo que se conoce como “click chemistry”, nos ha llevado a plantear para este trabajo los siguientes objetivos:

Objetivo general:

Sintetizar y caracterizar nuevos sistemas dendríticos solubles en agua de estructura carbosilano homo- y heterofuncionalizados, con grupos amonio periféricos, y evaluar su actividad como agentes de transporte no viral así como agentes terapéuticos contra distintos tipos de microorganismos.

Objetivos específicos:

I Sintetizar y caracterizar dendrímeros catiónicos esféricos homofuncionalizados, derivados de dos tipos de núcleo (Si y $C_6H_3(OH)_3$), funcionalizados por hidrosililación e hidrotiolación, que permitan establecer relaciones estructura-actividad en las potenciales aplicaciones de estos compuestos.

II Sintetizar y caracterizar dendrímeros esféricos heterofuncionalizados con grupos catiónicos y moléculas de interés biológico (fluoresceína e ibuprofeno).

III Sintetizar y caracterizar cuñas dendríticas catiónicas con distintos puntos focales que se puedan utilizar como bloques de construcción para la obtención de sistemas híbridos por su unión covalente a moléculas de interés biológico, nanopartículas u otros tipos de materiales.

IV Evaluar el potencial terapéutico de dendrímeros y dendrones frente a bacterias y otros microorganismos.

V Evaluar la biocompatibilidad de los dendrímeros y dendrones sintetizados, la posibilidad de emplearlos como agentes de transporte no viral y su biodistribución *in vivo*.

Distribución de la memoria

El trabajo realizado en cada una de estas etapas se describirá en la Memoria de acuerdo a la siguiente distribución:

En el **Capítulo 1** se hace una breve revisión general sobre las principales características de los dendrímeros, las estrategias de síntesis más comúnmente empleadas, así como sus aplicaciones más relevantes.

En el **Capítulo 2** se aborda en primer lugar la síntesis y caracterización estructural de dendrímeros carbosilano esféricos homo- y heterofuncionalizados con grupos catiónicos a través de reacciones de hidrosililación o hidrotiolación. A continuación se recoge la síntesis y caracterización estructural de cuñas dendríticas catiónicas que presentan diversos puntos focales y grupos amonio en su periferia. Además, comprende la obtención de estructuras más complejas a través de la dendronización de nanopartículas y glicodendrímeros PPI, así como la obtención de dendrones funcionalizados con moléculas de interés biológico en el punto focal.

En el **Capítulo 3** se detallarán los distintos ensayos empleados para comprobar la posibilidad de usar los sistemas sintetizados como microbicidas. Los distintos ensayos llevados a cabo para determinar la biocompatibilidad de estos sistemas, así como su actividad como agentes de transporte no viral, también se recogen en este capítulo.

En el **Capítulo 4** se describen las preparaciones de los nuevos compuestos preparados, así como las condiciones generales de trabajo experimental y las

técnicas de identificación estructural y análisis utilizadas. También se describen los procedimientos experimentales utilizados en los ensayos microbiológicos.

A modo de conclusiones se destacan los resultados más relevantes de este trabajo en el **Capítulo 5**.

Finalmente, y de acuerdo con la normativa vigente que rige los estudios de doctorado internacional, se añade un resumen en inglés del trabajo presentado y las conclusiones extraídas del mismo (**Summary and Conclusions**).

La **Bibliografía** empleada en cada uno de los capítulos se puede encontrar al final de los mismos.

Capítulo 1

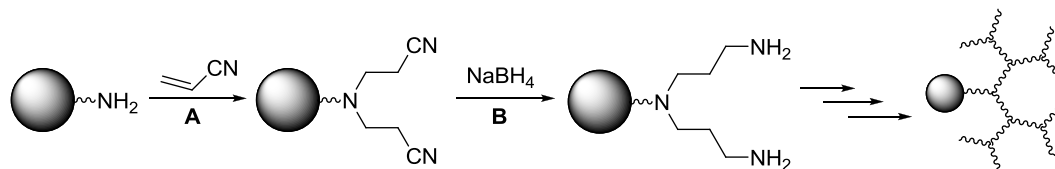
Introducción

1.1 Dendrímeros: definición y estructura

1.1.1 Compuestos dendríticos

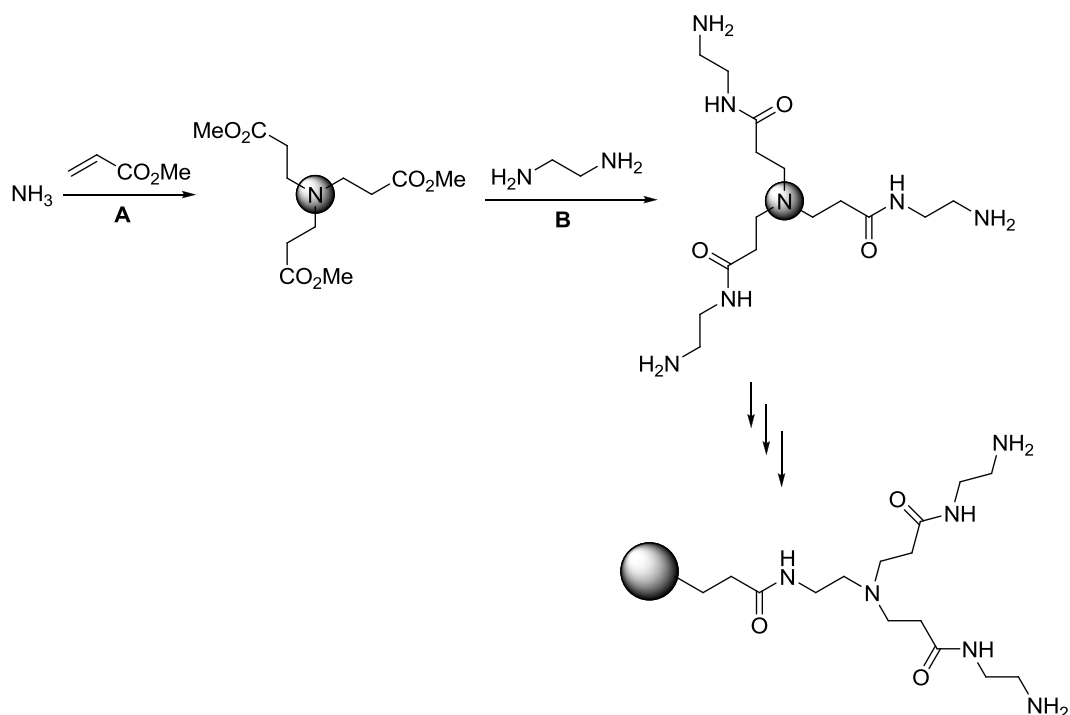
Los dendrímeros son un tipo de macromoléculas altamente ramificadas, de naturaleza globular y monodispersas que se caracterizan por tener una estructura bien definida. Estas características han hecho que destaque su aplicación para usos biomédicos,¹ si bien también se han utilizado en otros campos como la catálisis o los materiales.²

Las primeras moléculas dendríticas las sintetizó el grupo de Vögtle quien en 1974 describió una serie de moléculas que tenían muchos grupos funcionales similares en distintas ramas a las que nombró como moléculas tipo pulpo.³ Fue este mismo grupo quien sintetizó en 1978 los primeros dendrímeros a través de procesos sintéticos repetitivos o, como ellos mismos los denominaron, en cascada (Esquema 1.1).⁴



Esquema 1.1 Síntesis de los compuestos altamente ramificados propuestos por Vögtle (por repetición de los pasos A y B).

En 1985 Tomalia desarrolló una serie de compuestos hiperramificados basados en enlaces poliamida, los dendrímeros tipo PAMAM, que a día de hoy se han convertido en los compuestos de naturaleza dendrímica más utilizados (Esquema 1.2).⁵ A finales del s. XX creció la cantidad de dendrímeros descritos, entre ellos, los basados en unidades areno descritos por Miller y Neenan,⁶ los descritos por Fréchet con unidades bencil éter,⁷ los basados en unidades amida descritos por Newkome,⁸ aquellos que contienen átomos de fósforo descritos por Majoral y Caminade⁹ o aquellos que contienen átomos de silicio en su estructura.¹⁰



Esquema 1.2 Proceso repetitivo para la obtención de dendrímeros tipo PAMAM.

1.1.2 Estructura de los dendrímeros

La síntesis de los derivados dendríticos a través de pasos repetitivos, genera, en contraste con los polímeros convencionales, estructuras multifuncionalizadas bien definidas y de baja polidispersidad (próxima a uno) cuya estructura (Figura 1.1) consta de:

- Un núcleo multifuncional.
- Una estructura interna altamente ramificada que se puede dividir en distintas capas según van apareciendo los puntos de ramificación. A medida que se repiten los pasos necesarios para la construcción del dendrímero el número de funcionalidades aumenta, entendiéndose que cada vez que se ramifica el dendrímero se obtiene una molécula similar a la anterior, aunque con un mayor número de grupos terminales. Con el fin de poder distinguir estas moléculas análogas en las que se aumenta el número de ramificaciones, surge el término generación, que hace referencia al número de veces que se repite el proceso de aumentar el número de funciones de la molécula, empezando en la generación cero cuando no se ha ramificado y pasando a generaciones uno (G₁), dos (G₂),

tres (G_3)... según se haya repetido el proceso de síntesis una, dos, tres veces... Esta estructura interna, junto al núcleo, será la responsable de la flexibilidad y forma de la molécula.

- Los grupos funcionales, que se sitúan en la periferia, confieren las principales características, así como la solubilidad a los compuestos dendríticos. Es importante destacar que en el caso de dendrímeros formados por cadenas flexibles, dichos grupos pueden encontrarse dirigidos hacia el interior dendrítico (efecto denominado en inglés como *back-folding*, Figura 1.1) evitando la formación de huecos en su estructura o la obtención de moléculas con una superficie homogénea.¹¹ Esto es especialmente relevante en el caso de los dendrímeros con una estructura muy flexible en los que las ramas pueden doblarse hacia el interior evitando que los grupos funcionales saturen la periferia.¹² Sin embargo, en aquellos dendrímeros con estructuras internas rígidas los grupos periféricos saturan la periferia dendrítica al limitarse el plegamiento de las ramas hacia el interior de la molécula.¹³

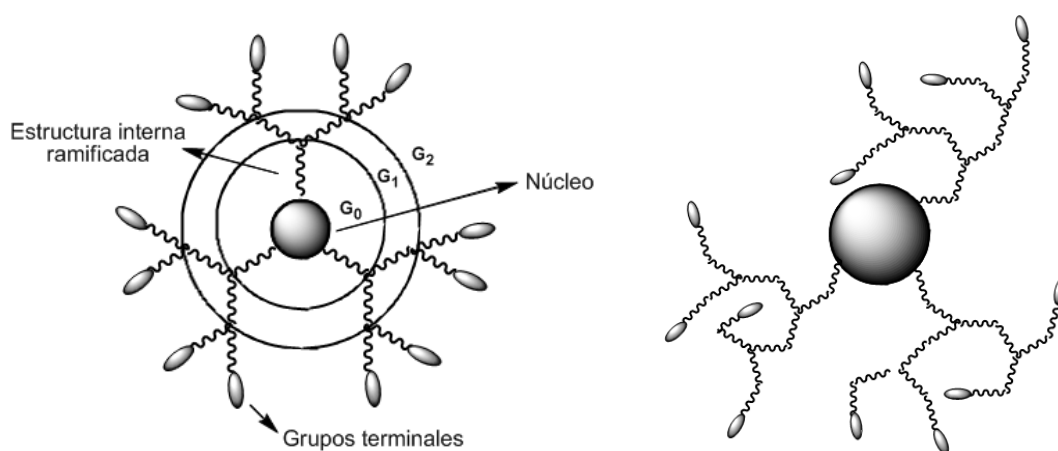


Figura 1.1 Estructura esquemática de un dendrímero (izq) y simulación del efecto de plegamiento de las ramas hacia el interior producido en moléculas altamente flexibles (dcha).

A la hora de diseñar un dendrímero se puede escoger el número de grupos funcionales en la superficie dendrítica (N_{gf}), seleccionando el número de grupos funcionales que emanan del núcleo (F_n), el número de ramas que emanan de cada punto de ramificación (F_r) y la generación (G):

$$N_{gf} = F_n(F_r - 1)^G$$

Sin embargo, hay que considerar que a medida que aumenta la generación dendrítica, la funcionalización no será tan efectiva al estar cada vez más saturada la periferia. Por ello es razonable pensar que exista una determinada generación, denominada límite, a partir de la cual ya no sea posible obtener una estructura dendrítica perfecta. Los primeros estudios en este sentido los realizaron de Gennes y Hervet para dendrímeros PAMAM, obteniendo una generación límite de 10.2.¹⁴ Si bien el estudio anterior no consideraba la posibilidad de que las ramas se plegasen hacia el interior de la molécula, el dato obtenido se aproxima en gran medida al obtenido en estudios más recientes que demuestran que las interacciones estéricas superficiales impiden el crecimiento más allá de la generación diez.¹⁵ También se pueden encontrar estudios de este tipo con otras estructuras dendríticas. Por ejemplo, para los dendrímeros triazina se encuentra de manera teórica una generación límite de 12.6 habiéndose sintetizado dendrímeros de generación 13, con un tamaño aproximado de 30 nm.¹⁶

1.1.3 Estructura de los dendrones

Las cuñas dendríticas o dendrones son un tipo de moléculas hiperramificadas con forma de cono que presentan propiedades similares a los dendrímeros. Se diferencian de los mismos por presentar una posición funcional en el denominado punto focal, en lugar del núcleo y que se encuentra bien diferenciado de los grupos funcionales en su periferia (Figura 1.2).¹⁷

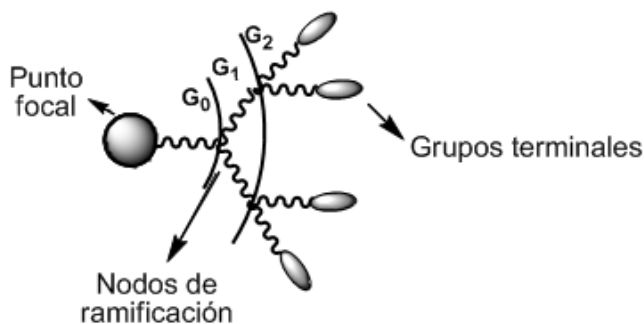


Figura 1.2 Estructura esquemática de un dendrón.

Sin embargo, de manera global presentan las mismas características que éstos y también las mismas rutas de síntesis y aplicaciones, por lo que no serán detalladas de manera aislada. Además, por su topología, pueden considerarse una rama de un dendrímero.

1.2 Propiedades de los dendrímeros

Las principales propiedades de los dendrímeros derivan de su estructura precisa y ramificada, su tamaño nanométrico y su multivalencia.¹⁸ De hecho, la estructura polivalente de los dendrímeros genera zonas con distinta densidad de grupos lo cual puede provocar efectos interesantes en determinadas aplicaciones.¹⁹

Son las características anteriores las que hacen atractivo el uso de estos compuestos en aplicaciones biomédicas. En la Tabla 1.1²⁰ se muestra el tamaño teórico calculado para dendrímeros PAMAM en función de su generación, así como su comparación con sistemas biológicos de tamaño similar. No obstante, se debe tener en cuenta que tamaño y forma dependen de diversos factores, como el disolvente o el núcleo.²¹

Otra particularidad de los dendrímeros concierne a la viscosidad, ya que este parámetro no aumenta de manera lineal a medida que aumenta el peso molecular, tal y como sucede en polímeros lineales.²² En los dendrímeros inicialmente la viscosidad aumenta a medida que crece la generación para luego volver a disminuir, lo cual se debe a la presencia de zonas con distinta densidad en la estructura, así como al cambio de forma en el dendrímero al pasar de una estructura abierta para generaciones bajas a una estructura más compacta debido a una superficie más densamente ocupada en las generaciones superiores.²³ Precisamente de esta característica de los dendrímeros se derivan otras como que sean difíciles de cristalizar, que su solubilidad sea superior a la de polímeros lineales o que su volumen sea inferior al esperado para un polímero lineal análogo.

Generación	Nº de grupos funcionales	Tamaño (nm)	Objeto biológico de tamaño similar
0	4	1.5	Sacarosa
1	8	2.2	Diámetro hélice ADN
2	16	2.9	
3	32	3.6	Longitud 10 pares de bases del ADN
4	64	4.5	
5	128	5.4	Anchura hemoglobina
6	256	6.7	
7	512	8.1	Espesor membrana celular
8	1024	9.7	
9	2048	11.4	Ancho flagelo de una bacteria
10	4096	19.5	

Tabla 1.1 *Tamaño teórico calculado para dendrímeros PAMAM de distintas generaciones y comparación con distintos fragmentos biológicos.*

También la disposición por capas de los dendrímeros genera efectos interesantes denominados dendríticos o patrones determinados de comportamiento, tanto aplicados a propiedades fisicoquímicas como a su actividad.²⁴ Dichos efectos se deben a la combinación de varios factores: la mayor o menor congestión estérica en función de la generación, así como el aumento del número de grupos funcionales en la periferia, ambos fruto del tamaño, forma, grupos terminales, rigidez, arquitectura y composición de la molécula dendrítica.

Se han descrito dos tipos de efectos dendríticos, o patrones de comportamiento, debidos a las características estructurales de los dendrímeros:

- El efecto dendrítico progresivo: una determinada propiedad del dendrímero varía linealmente a medida que crece la generación, por el aumento de grupos funcionales en la periferia. Un ejemplo del mismo fue recogido por Jacobsen que demostró cómo aumentaba la actividad catalítica de centros metálicos de cobalto a medida que éstos se situaban en dendrímeros de mayor generación.²⁵
- El efecto dendrítico no progresivo: una determinada propiedad afecta de distinta manera a las generaciones pares que a las impares; ello podría deberse a la influencia del distinto impedimento estérico para las generaciones pares que para las impares debido a una distinta congestión de la superficie dendrítica. Así, se ha observado para metalodendrímeros de tipo carbosilano que el tamaño de la primera y la segunda generación dendrítica es muy similar, mientras que éste sí aumenta notablemente para la tercera generación.²⁶

1.3 Métodos de síntesis

Tal y como ya se ha mencionado, los sistemas dendríticos se obtienen, en general, a través de procesos repetitivos. Por ello, lo deseable es que las reacciones implicadas en su construcción sean rápidas, eficientes y no precisen métodos de purificación demasiado complejos.²⁷

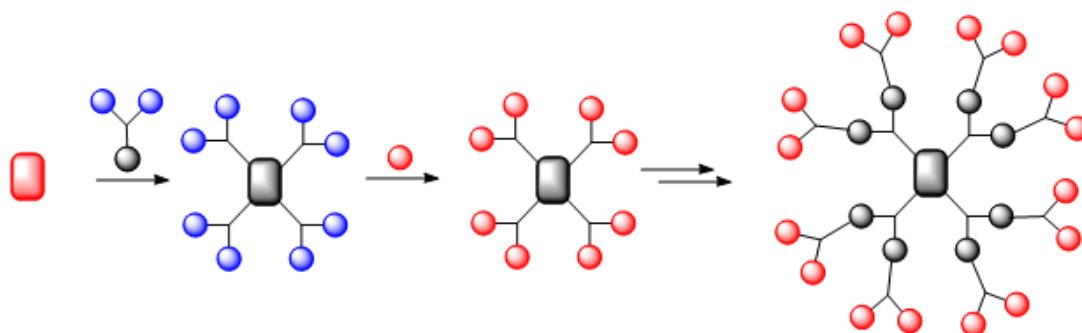
Las principales metodologías por las cuales se construye el esqueleto dendrítico son dos: divergente y convergente, además de diversas combinaciones de las mismas.

1.3.1 Síntesis divergente

La síntesis divergente^{5; 28} de dendrímeros es una metodología en la que, partiendo de un núcleo con una determinada multiplicidad, se llevan a cabo los pasos de reacción necesarios para el crecimiento del dendrímero en los cuales

habrá al menos uno que aumente la ramificación de la molécula dendrítica (Esquema 1.3). Así se llega a la estructura partiendo del interior y acercándose al exterior, construyendo el dendrímero generación a generación. Esta es la metodología utilizada para la obtención de los compuestos de Vögtle⁴ anteriormente mencionados.

Las principales ventajas de la síntesis divergente son la obtención de un esqueleto de gran tamaño, que permite la separación del producto final de los monómeros utilizados en el proceso de reacción; así como la utilización de reacciones iterativas que pueden permitir, en un principio, la automatización del proceso. Sin embargo, la utilización de la metodología divergente facilita la aparición de defectos en la estructura dendrítica producidos por la no reacción completa de la periferia. Ello se debe a la saturación de la superficie en generaciones superiores o al plegamiento de las ramas hacia el interior que pueden dificultar la reactividad de los grupos vecinos u ocultos, respectivamente. Estos defectos en las ramas dendríticas no se pueden evitar ni siquiera tras la adición de un gran exceso de los reactivos. Además, la separación de las moléculas con errores en la estructura de aquellas sin errores es prácticamente imposible, debido a la similitud entre las mismas.

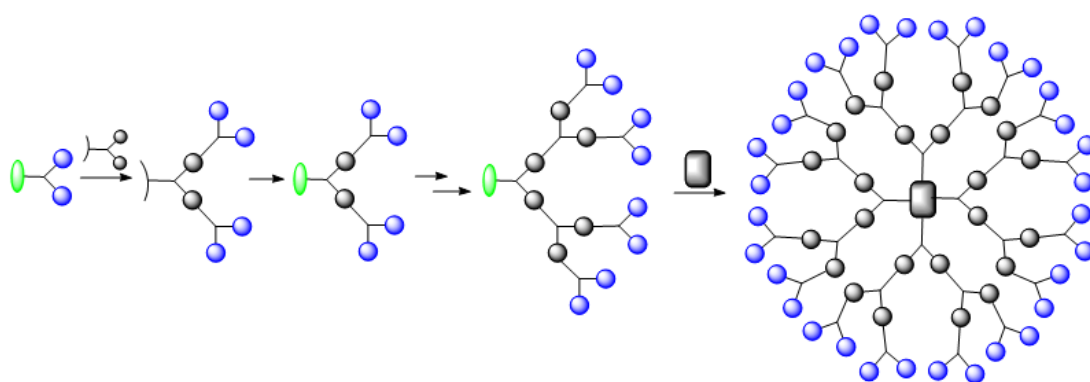


Esquema 1.3 Síntesis divergente.

1.3.2 Síntesis convergente

La metodología convergente consiste en el acoplamiento de dendrones a un determinado núcleo, obteniéndose así la macromolécula dendrítica de fuera hacia dentro (Esquema 1.4). Esta metodología es complementaria a la divergente

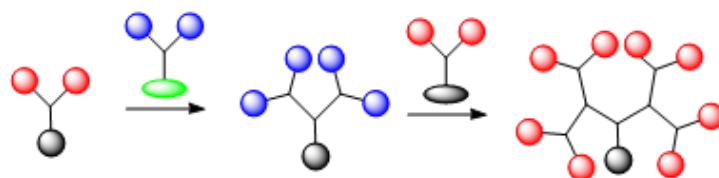
pues permite la funcionalización eficaz de dendrímeros de generaciones bajas evitando la formación de defectos y evita la utilización de grandes excesos de los monómeros de reacción, ya que en este caso ésta se realiza en condiciones equimolares. Asimismo, si se obtuvieran defectos y hubiera dendrones en los que no se ha completado la reacción, éstos podrían separarse con facilidad del resto de la mezcla al diferir su tamaño notablemente de aquel del dendrímero final. Sin embargo, la síntesis de dendrímeros aplicando esta metodología está limitada a bajas generaciones, pues el alto impedimento estérico en las generaciones superiores impide el acoplamiento final al núcleo dendrítico.^{7a; 29}



Esquema 1.4 Síntesis convergente.

1.3.3 Métodos mixtos

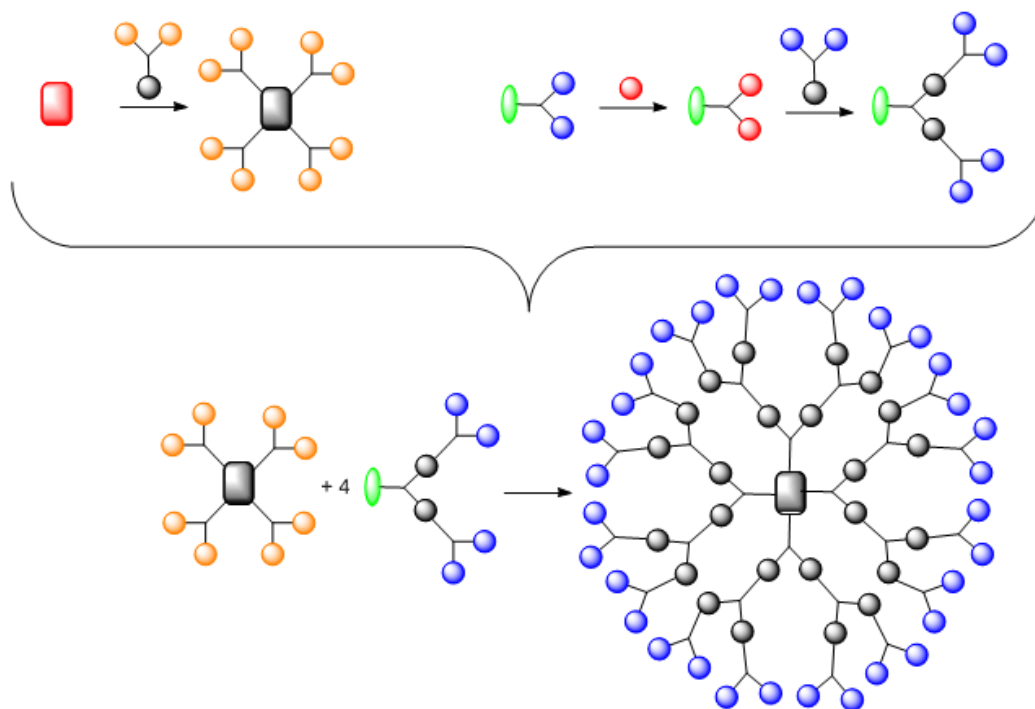
Los inconvenientes encontrados en las metodologías clásicas, o la incompatibilidad entre algunas de las funciones necesarias para la síntesis, han forzado la aparición de nuevas estrategias sintéticas que puedan subsanar, al menos parcialmente, los problemas encontrados para las mismas. Entre dichas metodologías se puede destacar la síntesis ortogonal, que consiste en la utilización de dos unidades ya ramificadas con grupos complementarios que pueden utilizarse para la construcción del dendrímero mediante la adición sucesiva de la una a la otra (Esquema 1.5).³⁰



Esquema 1.5 Síntesis ortogonal.

Otra variante es la síntesis convergente en doble fase (double-stage methods) que combina metodologías convergente y divergente.³¹ En estos procesos se hacen reaccionar un dendrímoro de baja generación con una cuña que contiene un punto reactivo capaz de unirse a dicho dendrímoro obteniéndose así un crecimiento de la esfera dendrítica más rápido y evitando el impedimento estérico que impide la formación de generaciones superiores a través de metodologías convergentes (Esquema 1.6).

Además se puede optar por la utilización de monómeros con un número de grupos terminales superior o núcleos con una cantidad mayor de grupos reactivos, disminuyendo así el número de pasos necesarios para la obtención de compuestos con un alto número de grupos funcionales en la periferia, ya que de esta manera ésta estará más saturada, incluso para bajas generaciones.³²



Esquema 1.6 Síntesis convergente en doble fase.

Una última aproximación sintética implica la utilización de la química supramolecular, es decir, de aquellos métodos basados en enlaces no covalentes. Los primeros compuestos así obtenidos hacían uso de interacciones hidrofóbicas en disolución acuosa.³³ Fréchet por su parte describió la formación de moléculas dendríticas mediante la unión de dendrones con grupos carboxilato a iones de lantánidos (Figura 1.3).³⁴

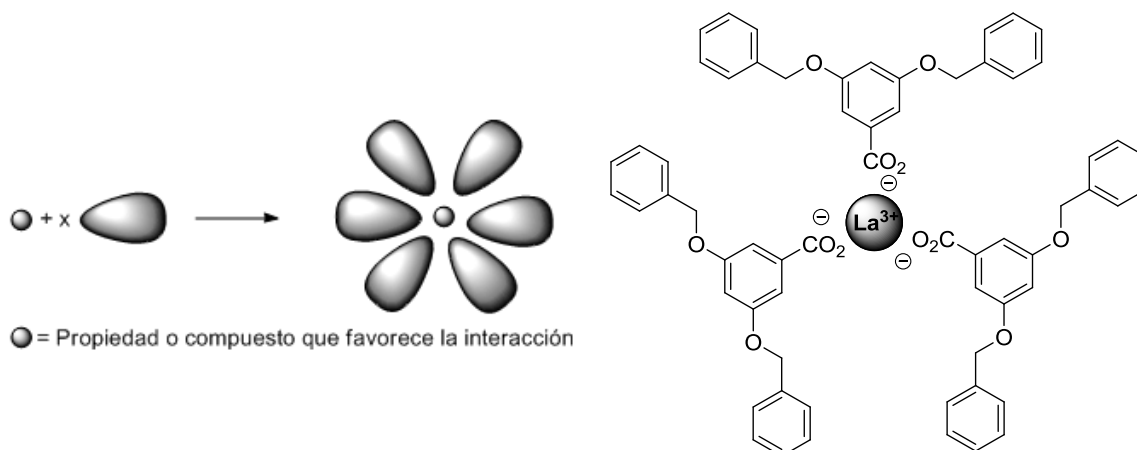


Figura 1.3 Formación de estructuras dendríticas haciendo uso de la química supramolecular (izq.) y estructura de uno de los complejos descritos por Fréchet (dcha.).

1.4 Tipos de dendrímeros

1.4.1 Tipos de moléculas dendríticas

Tal y como se ha explicado anteriormente, los dendrímeros poseen una serie de cualidades particulares y, aunque tradicionalmente se ha entendido por dendrímero la molécula esférica, existen otra serie de moléculas con otro tipo de topologías pero que mantienen las propiedades dendríticas.

Las moléculas dendríticas se pueden clasificar por tanto en función tanto de su polidispersidad como de su topología (Figura 1.4). Tal y como ya hemos mencionado, las moléculas dendríticas se suelen construir por repetición sucesiva de una serie de pasos de reacción, razón por la cual las moléculas obtenidas suelen ser monodispersas, bien tengan forma esférica (dendrímeros propiamente

dichos), cónica (dendrones) o de diávolo (cuñas tipo Jano). Sin embargo, también se pueden encontrar moléculas dendríticas de naturaleza polidispersa como los polímeros hiperramificados con una distribución probabilística de la estructura o los polímeros dendronizados, construidos por unión de dendrones a un polímero lineal.

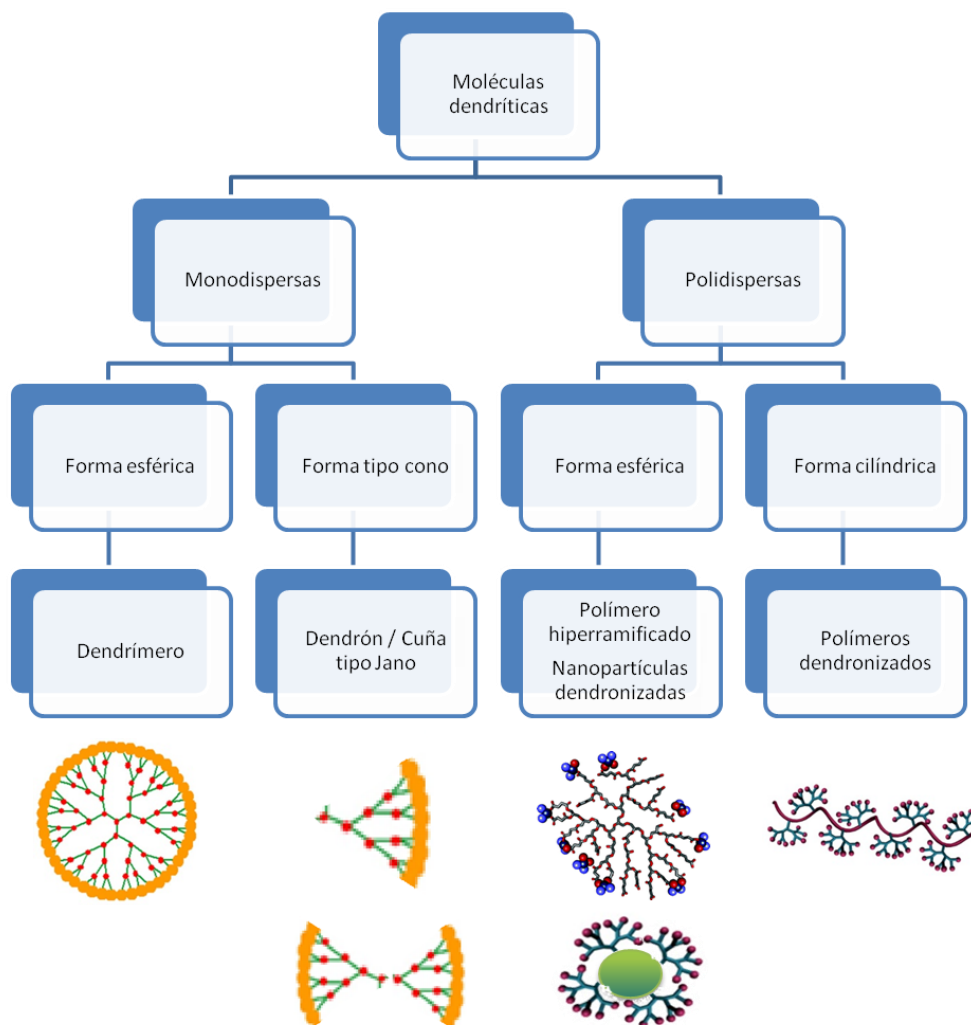
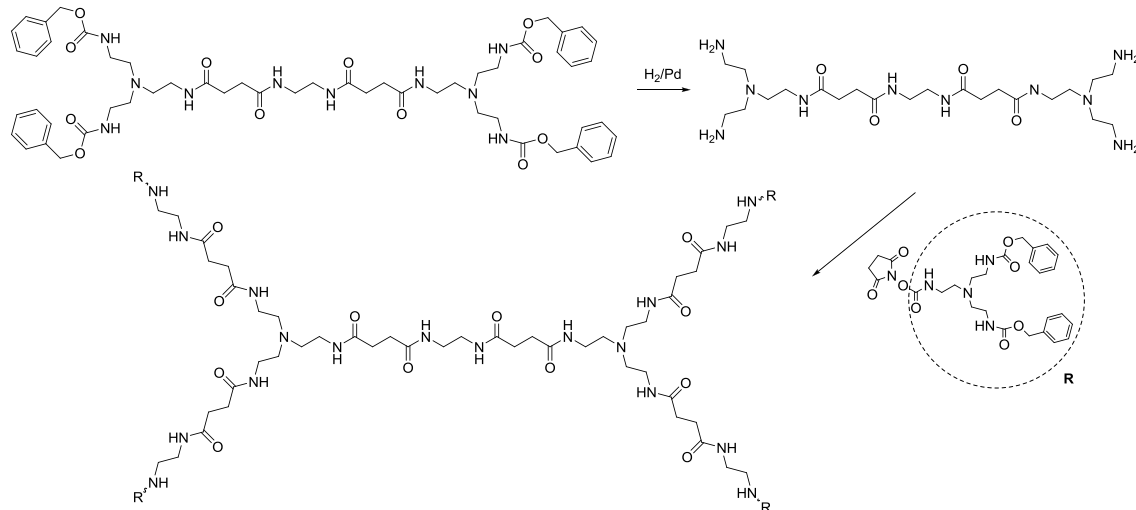


Figura 1.4 Clasificación de los tipos de moléculas dendríticas y figura esquemática de las mismas.

1.4.2 Dendrímeros comúnmente utilizados

Las moléculas de tipo dendrítico se clasifican habitualmente en función de su estructura, esto es, en función del tipo de enlaces y núcleos presentes en la misma. Como ya se ha comentado los dendrímeros tipo PAMAM han destacado por ser los más utilizados. Otro tipo de dendrímeros comerciales ampliamente

estudiados son los polipropilenimina (PPI)^{28a} cuya síntesis se basa en la descrita por Vögtle en 1974 (Esquema 1.1).³ El grupo de Majoros ha sintetizado dendrímeros híbridos entre los PAMAM y los PPI, conocidos como POMAM (Esquema 1.7).³⁵



Esquema 1.7 Síntesis de los dendrímeros POMAM.

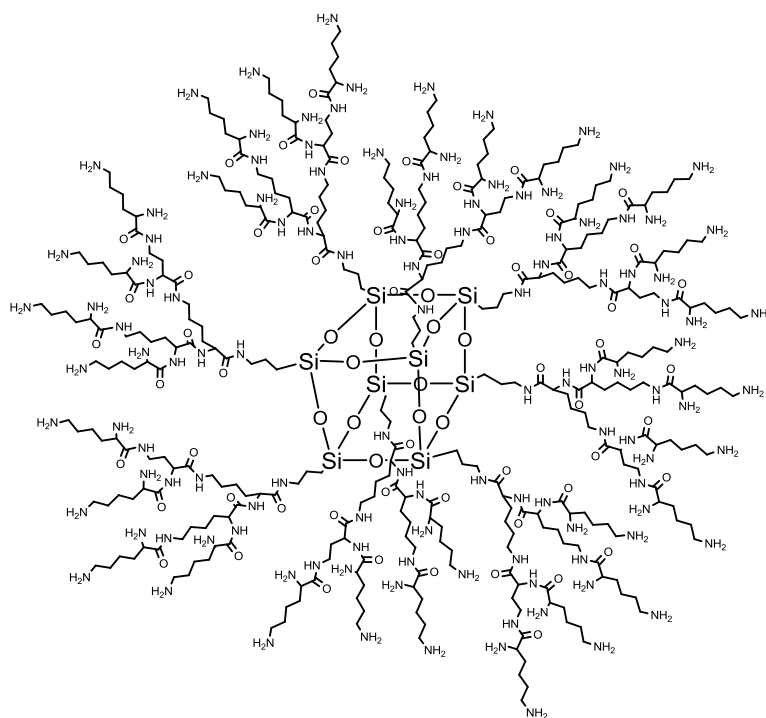


Figura 1.5 Estructura de un dendrímero polilisina con un núcleo de tipo siloxano.

También se han construido otras estructuras basadas en enlaces tipo amida. Entre ellas destacan los dendrímeros de tipo polilisina (Figura 1.5) que

utilizan como unidad estructural el aminoácido lisina, razón por la que han sido ampliamente utilizados en aplicaciones de tipo biomédico.³⁶

Otros dendrímeros con gran uso en aplicaciones biomédicas son los de tipo poliéster³⁷ que han sido comercializados por la compañía sueca Polymer Factory. Estos compuestos basan su estructura en enlaces de tipo éster que pueden ser degradados *in vivo* (Figura 1.6). También dentro del marco de los dendrímeros cuyo uso se ha focalizado esencialmente en aplicaciones biomédicas, podemos encontrar los glicodendrímeros,³⁸ que contienen carbohidratos en su parte externa o interna (Figura 1.6), o cuyo esqueleto está totalmente formado por carbohidratos. Su uso se popularizó inicialmente con el fin de entender las interacciones proteínas-carbohidratos que intervienen en numerosos procesos biológicos.³⁹

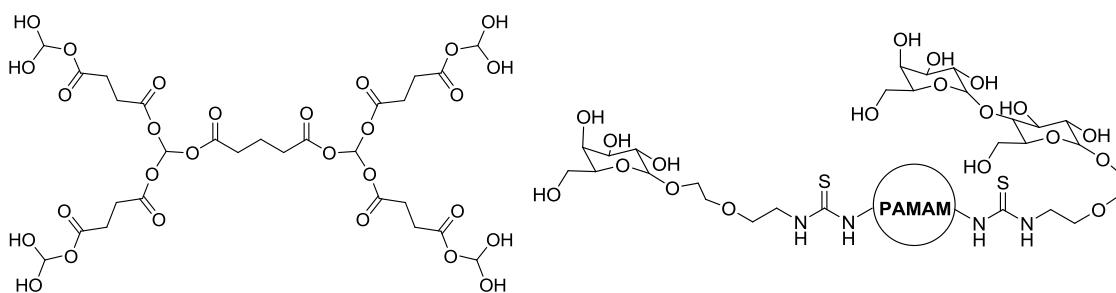


Figura 1.6 Ejemplo de un dendrímero de tipo poliéster (izq.) y un glicodendrímero (dcha.).

También se han utilizado dendrímeros que contienen grupos éter en su estructura como los dendrímeros de tipo poliglicerol (Figura 1.7) que, debido a su inercia, se han utilizado como matriz para la unión de grupos de actividad biológica con el fin de obtener efectos debidos a la multivalencia.⁴⁰ Asimismo se han sintetizado dendrímeros en los que se han sustituido los átomos de carbono por otro tipo de átomos en la estructura. Así el grupo de Majoral y Caminade ha descrito dendrímeros que contienen átomos de fósforo (Figura 1.7) en su estructura y que se han utilizado tanto en aplicaciones de tipo biomédico⁴¹ como en catálisis.⁴²

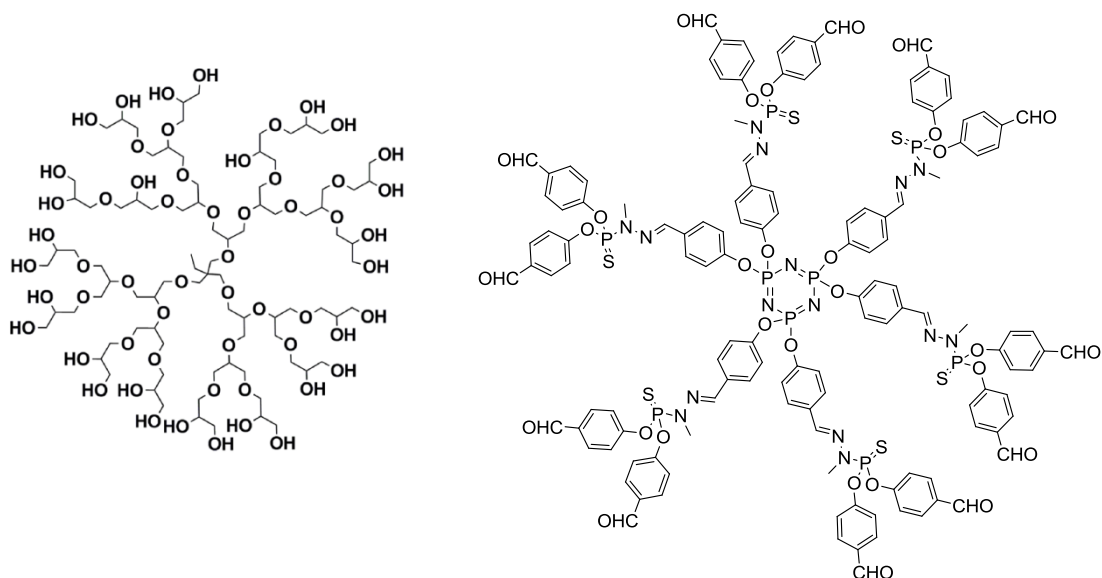


Figura 1.7 Ejemplo de dendrímeros de tipo poliglicerol (izq.) y con átomos de fósforo (dcha).

Todos los compuestos hasta ahora mencionados destacan por su flexibilidad estructural, aunque también hay grupos de investigación interesados en la síntesis de compuestos con una gran rigidez estructural. La rigidez de dichos derivados se logra mediante la introducción de una gran cantidad de anillos aromáticos en su estructura que pueden estar unidos por enlaces flexibles o rígidos. De esta forma se obtendrán derivados nanométricos de gran rigidez que son capaces de mantener su forma.⁴³ Entre estos derivados destacan los dendrímeros basados en estilbeno descritos por Meier y Lehman⁴⁴ interesantes para la formación de cristales líquidos (Figura 1.8).

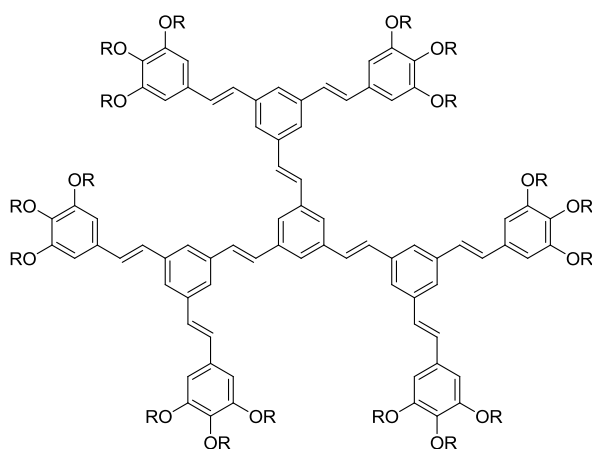


Figura 1.8 Dendrímtero con unidades de tipo estilbeno en su estructura.

Otros compuestos con gran rigidez estructural son los dendrímeros poliéter de tipo Fréchet que presentan unidades de tipo polibenciléter.^{29a; 45} Dentro de este grupo de compuestos podemos encontrar también los dendrímeros tipo triazina, llamados así por estar compuestos por anillos de 1,3,5-triazina con un espaciador que contiene grupos amino (Figura 1.9).⁴⁶

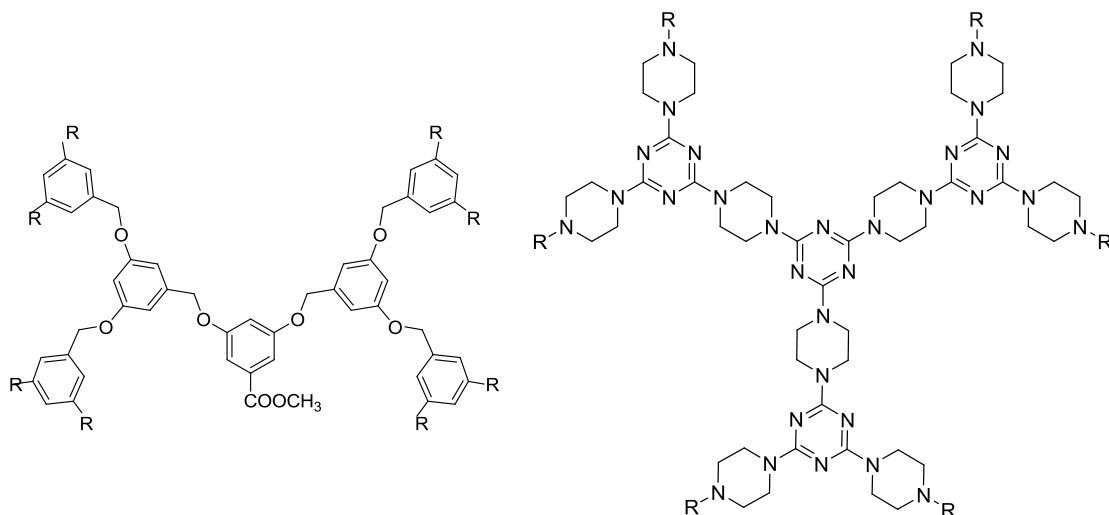


Figura 1.9 Ejemplo de dendrímeros de tipo polibenciléter (izq.) y triazina (dcha.).

1.4.3 Dendrímeros con átomos de silicio

Los primeros dendrímeros en contener heteroátomos distintos a los tan frecuentemente utilizados oxígeno, azufre, nitrógeno o halógenos, fueron los basados en silicio, bien sea como polisilanos (enlaces Si-Si en el esqueleto, Figura 1.10), silazanos (con enlaces Si-N-Si, Figura 1.10), siloxanos (con grupos Si-O-Si, Figura 1.10) o carbosilanos (con unidades Si-C, Figura 1.11).⁴⁷ Todos estos dendrímeros tienen en común su elevada flexibilidad, que se manifiesta en bajas temperaturas de transición vítrea y la facilidad con la que se puede modificar la multiplicidad de las ramificaciones, permitiendo estudiar la correlación entre la densidad de ramificación y las propiedades del material.

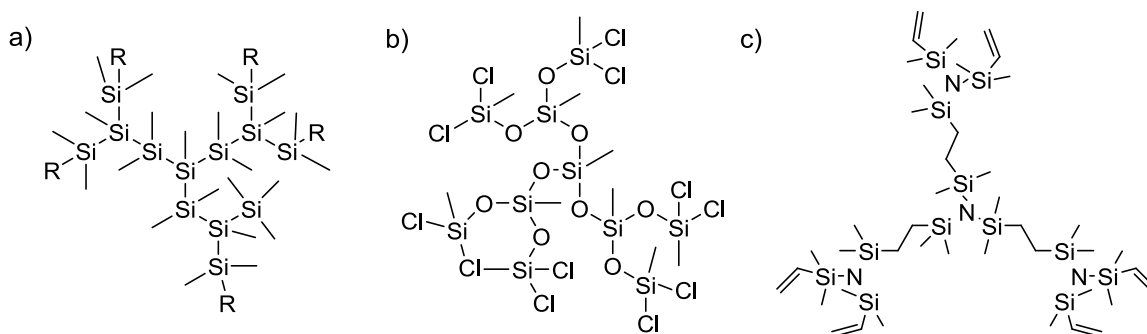


Figura 1.10 Ejemplo de estructura de dendrimeros con esqueleto a) polisilano b) siloxano y c) silazano.

Dentro de los dendrimeros basados en silicio, las estructuras carbosilano (Figura 1.11), presentan un gran interés debido a la facilidad para alterar su estructura mediante la variación del núcleo, la multiplicidad de las ramificaciones y la longitud de los segmentos entre los puntos de ramificación. Además, debido al tipo de enlaces presentes en el esqueleto carbosilano, presentan baja polaridad e inercia química. Este tipo de dendrimeros se describieron inicialmente por Made,⁴⁸ Roovers,⁴⁹ Seyferth⁵⁰ y Morán.^{10; 51}

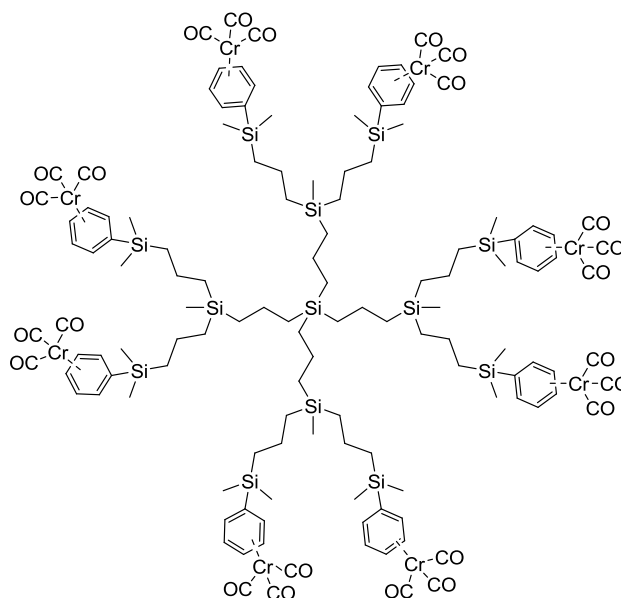


Figura 1.11 Ejemplos de dendrimeros con estructura carbosilano.

1.5 Técnicas de purificación y caracterización

El tamaño, simetría y el hecho de que las moléculas para las que la reacción se ha completado en todas sus ramas y las que no (aquellas con defectos) tienen propiedades muy similares, hace que la química de los dendrímeros abarque numerosas técnicas de purificación y estructurales.⁵²

Debido al gran tamaño de los dendrímeros de generaciones superiores, así como a la gran diferencia con respecto a los monómeros de partida, una técnica muy utilizada es la cromatografía de exclusión por tamaños (SEC o GPC).⁵³ Esta técnica separativa se diferencia notablemente de la cromatografía de afinidad puesto que las moléculas se separan por su tamaño, sin que haya ningún tipo de interacción con la fase sólida. Con este fin se emplea una fase sólida inerte, comúnmente poliestireno, que está formada por moléculas de un tamaño determinado que constan de poros de inferior tamaño. La separación se realiza en función del volumen hidrodinámico puesto que aquellas moléculas de menor tamaño serán capaces de penetrar en los poros alargando su camino, mientras que aquellas moléculas de mayor tamaño no serán capaces de introducirse en los poros y efluirán en primer lugar.

Otra técnica de purificación útil cuando se trabaja con moléculas dendríticas es la nanofiltración, que es un método de separación por membrana en dinámico que también permite separar moléculas en función de su distinto tamaño. Utilizando una membrana con un poro adecuado se conseguirán separar los distintos componentes a ambos lados de la membrana (Figura 1.12-B).

La electroforesis es una técnica analítica que permite separar los analitos en función de su capacidad para difundir en un determinado medio. En ausencia de otros efectos los cationes migran al cátodo cargado negativamente. Esta migración será más rápida a mayor ratio carga/tamaño. Esta técnica se ha empleado para comprobar la pureza de dendrímeros catiónicos tipo PAMAM.⁵⁴

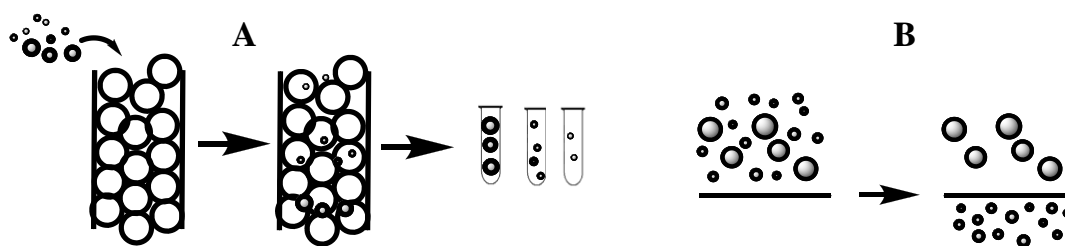


Figura 1.12 Esquema explicativo de la cromatografía de exclusión por tamaños (A) y de la nanofiltración (B).

En cuanto a la caracterización, la técnica más utilizada es la resonancia magnética nuclear (RMN), si bien, también se pueden utilizar infrarrojo (IR), difracción de rayos X, UV-Vis, fluorescencia, resonancia paramagnética de electrones o resonancia de espín electrónico cuando las propiedades de la molécula lo permiten.⁵⁵

En resonancia magnética nuclear, un hecho importante a tener en cuenta es que los dendrímeros están formados por estructuras repetitivas, razón por la cual, a medida que se aumenta la generación se hace más complicada la distinción entre las señales correspondientes a las capas internas y a aquellas correspondientes a las externas, al poseer generalmente un entorno químico prácticamente idéntico. Por esta razón surge frecuentemente la necesidad de recurrir a experimentos bi- y tri-dimensionales.⁵⁶ Además, muy recientemente Fernández-Megía ha desarrollado un experimento de RMN que permite distinguir las diferentes capas de un dendrímero en función de los diferentes tiempos de relajación T_2 , que van aumentando a medida que nos acercamos a la periferia dendrítica.⁵⁷

También resultan interesantes los estudios de RMN de difusión tipo DOSY para identificar el tamaño de las moléculas dendríticas en disolución. Así Newkome ha demostrado mediante este tipo de experimentos la influencia de factores externos a la molécula, como el pH, en su tamaño y estructura en disolución.⁵⁸

Existen escasos ejemplos de productos de naturaleza dendrítica caracterizados mediante difracción de rayos X, como consecuencia de la gran

flexibilidad que presentan la mayor parte de estas estructuras, así como al hecho de que en numerosas ocasiones los cristales formados con dichos compuestos contienen moléculas de disolvente en su interior. Por ello, la mayoría de los ejemplos caracterizados de esta manera se corresponden con estructuras rígidas o metalodendrimeros y nunca de generaciones superiores a la segunda.⁵⁹

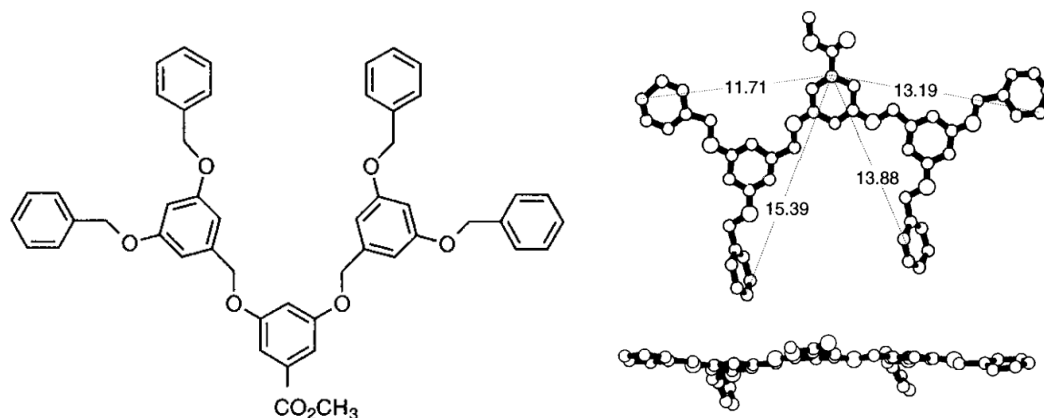


Figura 1.13 Estructura cristalina obtenida por difracción de rayos X de uno de los dendrones poli-*p*-fenileno sintetizados por Karakaya.

El estudio del tamaño de los dendrimeros así como de las interacciones que forman son también datos interesantes en la caracterización de los compuestos dendríticos. Las técnicas principalmente utilizadas para este fin son la microscopía de fuerza atómica (AFM)⁶⁰ y la microscopía de transmisión electrónica (TEM).⁶¹ Un estudio sobre el tamaño de dendrimeros PAMAM por AFM, realizado por el grupo de Tomalia,^{60b} muestra la correlación entre los tamaños teóricos calculados para las macromoléculas dendríticas de quinta a octava generación; aunque el tamaño observado experimentalmente para los dendrimeros de novena y décima generación era mayor del calculado teóricamente. En cuanto al TEM, en muchas ocasiones el bajo peso molecular de los átomos impide su uso al no haber un contraste suficiente, y por ello las mejores imágenes se pueden encontrar con metalodendrimeros.⁶² Esta técnica también puede ser útil para el estudio de la estabilización de nanopartículas metálicas por dendrimeros.⁶³

En cuanto a la espectrometría de masas, estos compuestos deben ser analizados por métodos de ionización suaves,^{53a; 64} como MALDI y ESI, ya que al ser moléculas de gran tamaño tienden a fragmentarse cuando son ionizadas con métodos más tradicionales. Estas técnicas permiten no sólo la detección del ión molecular correspondiente, sino también la de iones correspondientes a las moléculas que contienen defectos estructurales.^{23b; 65} En este sentido se han realizado estudios de las imperfecciones estructurales de macromoléculas dendríticas de tipo PPI⁶⁵ y PAMAM⁶⁶ mediante ESI. Entre estos estudios destaca el realizado por Dvornic que permitió comprobar que para dendrímeros PAMAM el número de defectos estructurales aumenta considerablemente al pasar de la generación 8 a la 9.⁶⁷ Durante la realización de estos estudios se debe tener en cuenta que se pueden dar fragmentaciones durante la ionización que a veces pueden confundirse con defectos estructurales.⁶⁸

1.6 Aplicaciones

Debido a las propiedades anteriormente expuestas para los compuestos dendríticos, monodispersidad, multivalencia y tamaño nanométrico, los dendrímeros se han utilizado con múltiples propósitos. Uno de los primeros campos en los que estas estructuras se usaron fue el de la catálisis, con la idea de poder modificar la actividad catalítica por la presencia de múltiples centros activos próximos que pueden situarse en la periferia, en los puntos de ramificación o en el punto focal de un dendrón; o bien de proteger los ligandos activos evitando que estos se desactiven en el medio.⁶⁹ Un ejemplo son los dendrímeros carbosilano con monofosfinas P-estereogénicas descritos por Rossell, útiles para hidrovilación de estireno (Figura 1.14).⁷⁰ También Astruc propuso la utilización de dendrímeros carbosilano como agentes encapsulantes de nanopartículas de oro para catalizar la reducción de p-nitrofenol.⁷¹

El uso de dendrímeros en catálisis permite también el reciclaje de los catalizadores dendríticos, tanto en catálisis homogénea como en heterogénea, haciendo uso del gran tamaño molecular.^{2b; 72}

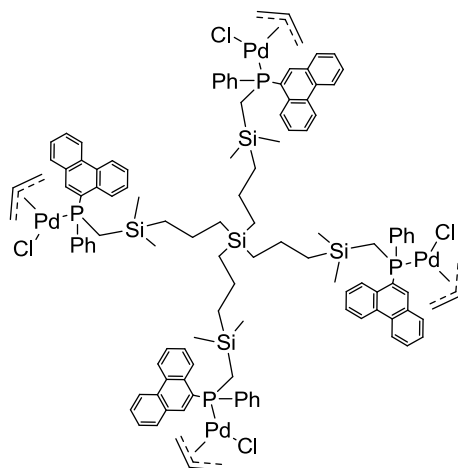


Figura 1.14 Estructura de uno de los compuestos carbosilano descritos por Rossell.

En otras ocasiones se hace uso de la variable densidad en las distintas zonas dendríticas, pudiendo lograr un efecto amplificador en compuestos recolectores de luz (*light-harvesting*) debido a una transferencia entre el núcleo y la periferia.⁷³

Además, la posibilidad de introducir grupos mesógenos en moléculas de tipo dendrítico ha generado numerosas investigaciones en la utilización de dendrímeros como componentes de cristales líquidos con el fin de obtener nuevas mesofases a través del autoensamblaje.⁷⁴ Dentro de esta aplicación se han utilizado dendrímeros de tipo carbosilano, entre otros, con el fin de aprovechar las características del esqueleto carbosilano que permite obtener derivados con capas hidrofóbicas e hidrofílicas.⁷⁵

Finalmente, la introducción de grupos específicos en el interior dendrítico puede usarse para incrementar la habilidad de los dendrímeros para capturar y detectar moléculas. Así, dendrímeros de tipo polifenileno con funciones piridilo en su interior, presentan una afinidad elevada hacia el triperóxido de triacetona, un explosivo de fuerza comparable al trinitrotolueno, pudiendo utilizarse para su identificación.⁷⁶

1.6.1 Aplicaciones de tipo biomédico

Las macromoléculas dendríticas también se han utilizado en numerosas aplicaciones biomédicas. Así, gracias a su arquitectura globular, se han utilizado para mimetizar proteínas,⁷⁷ enzimas⁷⁸ o glicosacáridos.⁷⁹ Algunos estudios muestran cómo la introducción de grupos enzimáticos en dendrímeros aumenta su capacidad catalítica.⁸⁰ Asimismo Reymond ha demostrado cómo la utilización de dendrímeros peptídicos permite la obtención de derivados con capacidad enzimática o de reconocimiento molecular.⁸¹

También se han aprovechado las distintas partes de su estructura para el transporte de moléculas, resultando los mismos muy interesantes debido a su falta de inmunogenicidad.⁸² Para ello, se han utilizado tanto los huecos⁸³ que quedan en el interior dendrítico como la periferia⁸⁴ dendrítica, a través de interacciones electrostáticas, por enlaces covalentes o por simple encapsulamiento. Así, algunos estudios muestran cómo se puede introducir boro en la periferia dendrítica con el fin de aprovechar la gran densidad de átomos de boro en la terapia de captura de neutrones por átomos de boro que se utiliza para tumores inoperables.⁸⁵

Es también interesante el uso de moléculas dendríticas con un interior hidrofóbico y un exterior hidrofílico para la solubilización de fármacos poco solubles en agua⁸⁶ así como otro tipo de moléculas como antraceno^{29b} o pireno (Figura 1.15).⁸⁷ La hidrofobia del esqueleto carbosilano ha incentivado el uso de estos derivados en este tipo de estudios. Así Hatano estudió cómo dendrímeros carbosilano funcionalizados con lactosas en la periferia podían formar micelas útiles para el transporte de fármacos.⁸⁸

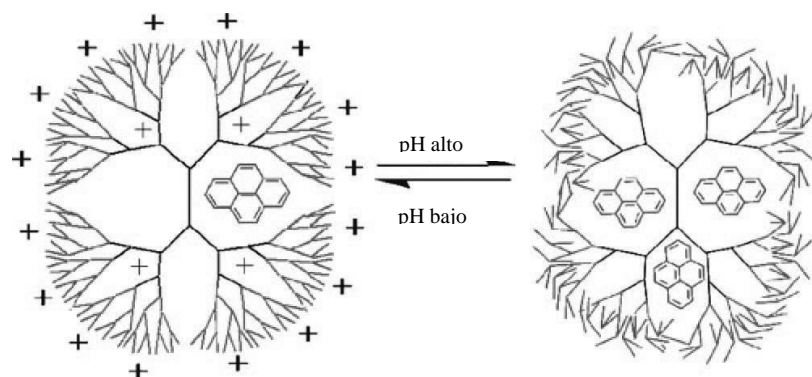
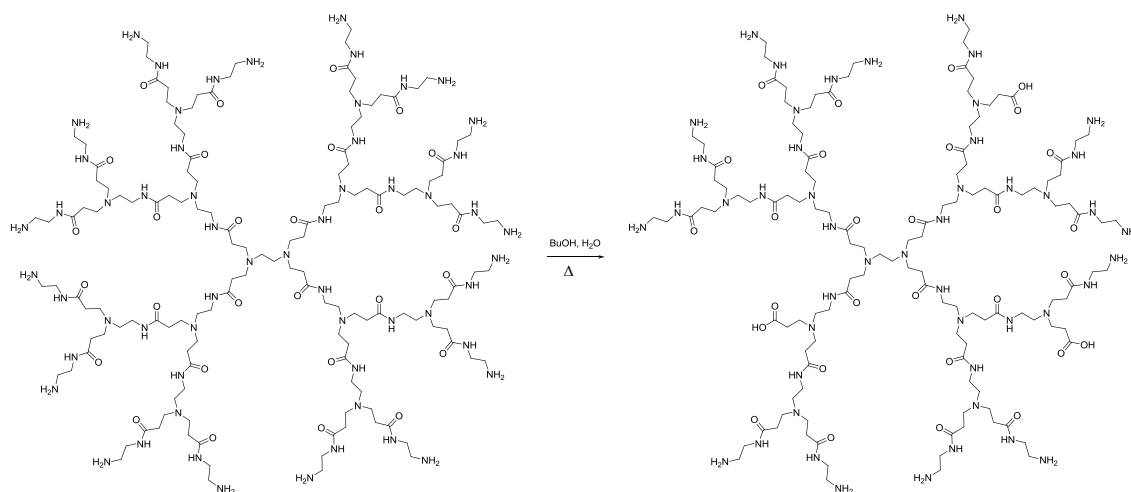


Figura 1.15 Representación esquemática de la encapsulación de pireno dependiente de pH en dendrímeros con núcleo PPI y exterior PAMAM.

Los dendrímeros también han sido utilizados en transfección de ácidos nucleicos. Dentro de esta aplicación ha destacado su uso en terapia génica como transportadores de material nucleico para la regulación de genes. Con este propósito se utilizan sistemas catiónicos capaces de unirse electrostáticamente a los grupos fosfato del material nucleico con el fin de llevarlo hasta el lugar de acción y finalmente alterar la expresión de un gen. Uno de los compuestos más utilizados en esta aplicación es el denominado PolyFect que consiste en un dendrímero PAMAM sometido a un tratamiento térmico que produce la degradación de un cierto número de sus grupos periféricos (Esquema 1.8).⁸⁹ El fin de dicho tratamiento térmico es disminuir la congestión en la superficie del dendrímero de forma que la compactación con el material nucleico sea más efectiva.



Esquema 1.8 Degradación de un dendrímero PAMAM.

Además de introducir fármacos, se puede aprovechar la periferia dendrítica para introducir agentes de contraste. En este campo destaca gadomer 17, un dendrímero de polilisina con 24 ligandos tipo DOTA que coordinan gadolinio (III) presentando, además de un buen perfil de eliminación del ión metálico, una mayor estabilidad y contraste *in vivo* que otros compuestos comerciales de gadolinio.⁹⁰

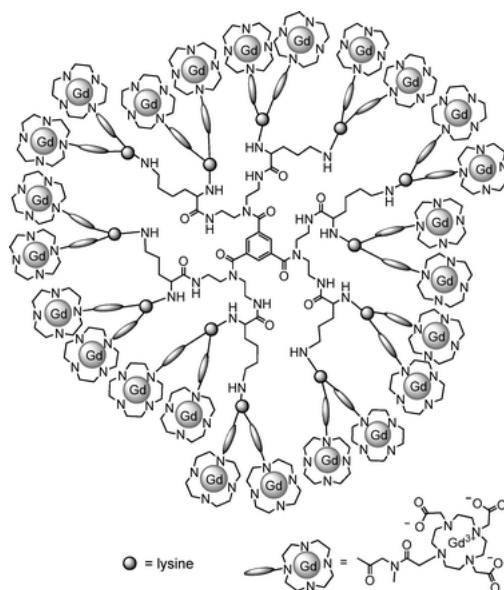


Figura 1.16 Estructura esquemática de Gadomer 17.

Si bien los dendrímeros pueden actuar como agentes transportadores de otros compuestos activos, también hay que destacar la posibilidad de que actúen como fármacos por sí mismos. Como consecuencia de la presencia de múltiples grupos funcionales, dichas macromoléculas tienden a presentar mayor solubilidad, reactividad y capacidad para unir moléculas. Esto puede resultar en efectos positivos ya que la unión múltiple puede favorecer la avidez y especificidad de su acción.

Los dendrímeros aniónicos han demostrado ser potentes agentes terapéuticos. Starpharma desarrolló un dendrímero denominado VivaGel de tipo polilisina que contiene en la periferia 32 grupos naftildisulfonato y que actualmente se encuentra en fase clínica 3 frente a la vaginosis bacteriana habiéndose demostrado una mejora de los síntomas tras el tratamiento con este

dendrímico. Este tipo de derivados han mostrado también capacidad antiviral frente al virus de la inmunodeficiencia humana (VIH). Su mecanismo de acción probablemente se deba a la adhesión del dendrímico a la proteína Gp120 de la superficie del virus impidiendo su unión a los receptores CD4 de células sanas.⁹¹

Nuestro grupo de investigación ha desarrollado también macromoléculas dendríticas de naturaleza aniónica como agentes terapéuticos frente al VIH. Entre los mismos se encuentra el dendrímico de segunda generación denominado AB216 (Figura 1.17) con 16 grupos sulfonato periféricos y bajos perfiles de toxicidad.⁹² Además se han sintetizado otros sistemas, con un buen perfil de actividad, obtenidos por reacciones tipo *click* que facilitan los procesos sintéticos utilizados para su obtención.⁹³ Recientemente también se han sintetizado algunos metalodendrímicos de tipo PPI con ligandos nitrogenados polianiónicos que han mostrado buenos rangos de biocompatibilidad, reduciendo la toxicidad de los iones metálicos aislados y consiguiendo inhibir la infección por VIH entre un 40 y un 70 % en pre- y post-tratamiento.⁹⁴

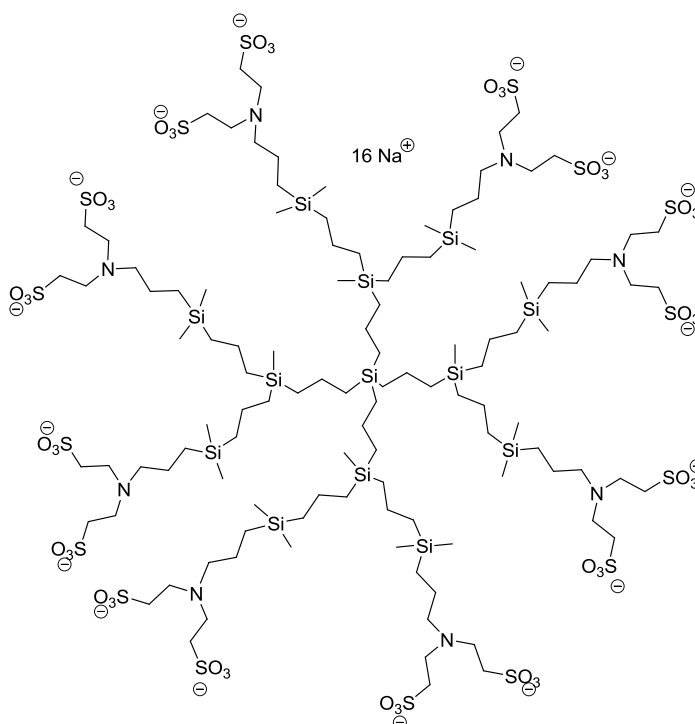


Figura 1.17 Estructura del dendrímico de tipo carboxilano antiviral AB216.

Por su parte, los dendrímeros catiónicos pueden ser utilizados como biocidas ya que pueden unirse a la membrana bacteriana y desestabilizarla. La actividad de estas macromoléculas puede verse influenciada por la generación, el tipo de grupos catiónicos o el contraanión presente, tal y como muestran algunos estudios previos.⁹⁵

1.7 Bibliografía

- [1] a) Cloninger, M. J., *Curr. Opin. Chem. Biol.* **2002**, *6*, 742; b) Bryszewska, M., Klajnert, B., *Curr. Med. Chem.* **2012**, *19*, 4895.
- [2] a) Caminade, A. M., Turrin, C. O., Laurent, R., Ouali, A., Delavaux-Nicot, B., *Dendrimers: Towards Catalytic, Material and Biomedical Uses*. John Wiley & Sons Ltd.: **2011**; 538; b) Knapen, J. W. J., van der Made, A. W., de Wilde, J. C., Van Leeuwen, P. N. M. W., Wijkens, P., Grove, D. M., van Koten, G., *Nature* **1994**, *372*, 659; c) Cooper, A. I., Londono, J. D., Wignall, G., McClain, J. B., Samulski, E. T., Lin, J. S., Dobrynin, A., Rubinstein, M., Burke, A. L. C., Fréchet, J. M. J., DeSimone, J. M., *Nature* **1997**, *389*, 368.
- [3] Vögtle, F., Weber, E., *Angew. Chem.* **1974**, *86*, 896.
- [4] Buhleier, E., Wehner, W., Vogtle, F., *Synthesis-Stuttgart* **1978**, 155.
- [5] Tomalia, D. A., Baker, H., Dewald, J., Hall, M., Kallos, G., Martin, S., Roeck, J., Ryder, J., Smith, P., *Polym. J.* **1985**, *17*, 117.
- [6] Miller, T. M., Neenan, T. X., *Chem. Mater.* **1990**, *2*, 346.
- [7] a) Hawker, C. J., Fréchet, J. M. J., *J. Am. Chem. Soc.* **1990**, *112*, 7638; b) Hawker, C. J., Fréchet, J. M. J., *Macromolecules* **1990**, *23*, 4726.
- [8] a) Newkome, G. R., Behera, R. K., Moorefield, C. N., Baker, G. R., *J. Org. Chem.* **1991**, *56*, 7162; b) Newkome, G. R., Lin, X., Weis, C. D., *Tetrahedron: Asymmetry* **1991**, *2*, 957.
- [9] a) Launay, N., Galliot, C., Caminade, A. M., Majoral, J. P., *B. Soc. Chim. Fr.* **1995**, *132*, 1149; b) Launay, N., Caminade, A. M., Lahana, R., Majoral, J. P., *Angew. Chem. Int. Ed.* **1994**, *106*, 1589.
- [10] Alonso, B., Cuadrado, I., Morán, M., Losada, J., *Chem. Commun.* **1994**, 2575.

- [11] a) Naylor, A. M., Goddard, W. A., III, Kiefer, G. E., Tomalia, D. A., *J. Am. Chem. Soc.* **1989**, *111*, 2339; b) Scherrenberg, R., Coussens, B., van Vliet, P., Edouard, G., Brackman, J., de Brabander, E., Mortensen, K., *Macromolecules* **1998**, *31*, 456.
- [12] a) Lescanec, R. L., Muthukumar, M., *Macromolecules* **1990**, *23*, 2280; b) Boris, D., Rubinstein, M., *Macromolecules* **1996**, *29*, 7251.
- [13] Rosenfeldt, S., Dingenouts, N., Potschke, D., Ballauff, M., Berresheim, A. J., Muellen, K., Lindner, P., *Angew. Chem., Int. Ed.* **2004**, *43*, 109.
- [14] De Gennes, P. G., Hervet, H., *J. Phys., Lett.* **1983**, *44*, 351.
- [15] Maiti, P. K., Cagin, T., Wang, G., Goddard, W. A., III, *Macromolecules* **2004**, *37*, 6236.
- [16] Lim, J., Kostianen, M., Maly, J., da Costa, V. C. P., Annunziata, O., Pavan, G. M., Simanek, E. E., *J. Am. Chem. Soc.* **2013**, *135*, 4660.
- [17] Tomalia, D. A., Esfand, R., *Chem. Ind. London* **1997**, 416.
- [18] Tomalia, D. A., *Aldrichim. Acta* **2004**, *37*, 39.
- [19] Balzani, V., Ceroni, P., Juris, A., Venturi, M., Campagna, S., Puntoriero, F., Serroni, S., *Coord. Chem. Rev.* **2001**, *219-221*, 545.
- [20] <http://dendritech.com/>
- [21] Maiti, P. K., Cagin, T., Lin, S. T., Goddard, W. A., *Macromolecules* **2005**, *38*, 979.
- [22] Kamide, K., Dobashi, T., *Physical Chemistry of Polymer Solutions*. Elsevier: Amsterdam, **2000**.
- [23] a) Mourey, T. H., Turner, S. R., Rubinstein, M., Frechet, J. M. J., Hawker, C. J., Wooley, K. L., *Macromolecules* **1992**, *25*, 2401; b) Bosman, A. W., Janssen, H. M., Meijer, E. W., *Chem. Rev.* **1999**, *99*, 1665; c) Lu, Y., Shi, T., An, L., Jin, L., Wang, Z. G., *Soft Matter*. **2010**, *6*, 2619.
- [24] Tomalia, D. A., *New J. Chem.* **2012**, *36*, 264.
- [25] Breinbauer, R., Jacobsen, E. N., *Angew. Chem., Int. Ed.* **2000**, *39*, 3604.
- [26] a) Angurell, I., Rodríguez, L. I., Rossell, O., Seco, M., *Organometallics* **2011**, *30*, 5771; b) Appoh, F. E., Thomas, D. S., Kraatz, H.-B., *Macromolecules* **2005**, *38*, 7562; c) Sánchez-Nieves, J., Perise-Barrios, A. J.,

- Ortega, P., Corbi, A. L., Domínguez-Soto, A., Muñoz-Fernández, M. A., Gómez, R., de la Mata, F. J., *RSC Adv.* **2013**, 3, 23445.
- [27] Antoni, P., Robb, M. J., Campos, L., Montanez, M., Hult, A., Malmstrom, E., Malkoch, M., Hawker, C. J., *Macromolecules* **2010**, 43, 6625.
- [28] a) Denkewalter, R. G., Kolc, J., Lukasavage, W. J. US4289872A, **1981**; b) Newkome, G. R., Yao, Z. Q., Baker, G. R., Gupta, V. K., *J. Org. Chem.* **1985**, 50, 2003.
- [29] a) Hawker, C., Fréchet, J. M. J., *Chem. Commun.* **1990**, 1010; b) Hawker, C. J., Wooley, K. L., Fréchet, J. M. J., *J. Chem. Soc. Perk. Trans. 1* **1993**, 1287.
- [30] Zeng, F., Zimmerman, S. C., *J. Am. Chem. Soc.* **1996**, 118, 5326.
- [31] Ihre, H., Hult, A., Fréchet, J. M. J., Gitsov, I., *Macromolecules* **1998**, 31, 4061.
- [32] a) Wooley, K. L., Hawker, C. J., Frechet, J. M. J., *Angew. Chem.* **1994**, 106, 123; b) L'Abbe, G., Forier, B., Dehaen, W., *Chem. Commun.* **1996**, 2143.
- [33] Chapman, T. M., Hillyer, G. L., Mahan, E. J., Shaffer, K. A., *J. Am. Chem. Soc.* **1994**, 116, 11195.
- [34] a) Kawa, M., Fréchet, J. M. J., *Chem. Mater.* **1998**, 10, 286; b) Fréchet, J. M. J., *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **2002**, 99, 4782.
- [35] Majoros, I. J., Mehta, C. B., Baker, J. R., Jr., *J. Comput. Theor. Nanosci.* **2004**, 1, 193.
- [36] Qualmann, B., Kessels, M. M., Musiol, H.-J., Sierralta, W. D., Jungblut, P. W., Moroder, L., *Angew. Chem., Int. Ed. Engl.* **1996**, 35, 909.
- [37] Nummelin, S., Skrifvars, M., Rissanen, K., *Top. Curr. Chem.* **2001**, 212, 1.
- [38] a) Chabre, Y. M., Roy, R., *Curr. Top. Med. Chem.* **2008**, 8, 1237; b) Gillies, E. R., John Wiley & Sons, Inc.: **2011**; 261; c) Niederhafner, P., Reiniš, M., Šebestík, J., Ježek, J., *J. Pept. Sci.* **2008**, 14, 556.
- [39] Lindhorst, T. K., *Top. Curr. Chem.* **2002**, 218, 201.
- [40] a) Wei, Q., Becherer, T., Mutihac, R. C., Noeske, P. L. M., Paulus, F., Haag, R., Grunwald, I., *Biomacromolecules* **2014**, Ahead of Print; b) Bhatia, S., Dimde, M., Haag, R., *MedChemComm* **2014**, 5, 862; c) Nowag, S.,

- Frangville, C., Multhaupt, G., Marty, J. D., Mingotaud, C., Haag, R., *J. Mater. Chem. B* **2014**, 2, 3915.
- [41] a) Caminade, A. M., Majoral, J. P., John Wiley & Sons, Inc.: **2012**; 139; b) Vacas-Córdoba, E., Bastida, H., Pion, M., Hameau, A., Ionov, M., Bryszewska, M., Caminade, A. M., Majoral, J. P., Muñoz-Fernández, M. A., *Curr. Med. Chem.* **2014**, 21, 1898; c) Shakhbazov, A., Mohanty, C., Shcharbin, D., Bryszewska, M., Caminade, A. M., Majoral, J. P., Alant, J., Midha, R., *J. Control. Release* **2013**, 172, 841.
- [42] Caminade, A. M., Laurent, R., Ouali, A., Majoral, J. P., *Inorg. Chim. Acta* **2014**, 409, 68.
- [43] Wiesler, U., Weil, T., Müllen, K., *Top. Curr. Chem.* **2001**, 212, 1.
- [44] Meier, H., Lehmann, M., *Angew. Chem., Int. Ed.* **1998**, 37, 643.
- [45] Saboktakin, M. R., Maharramov, A., Ramazanov, M. A., *J. Am. Sci.* **2007**, 3, 45.
- [46] a) Merkel, O. M., Mintzer, M. A., Sitterberg, J., Bakowsky, U., Simanek, E. E., Kissel, T., *Bioconjugate Chem.* **2009**, 20, 1799; b) Zhang, W., Simanek, E. E., *Org. Lett.* **2000**, 2, 843.
- [47] a) Son, D. Y., *Silicon-Based Dendrimers and Hyperbranched Polymers in The chemistry of organic silicon compounds*. John Wiley & Sons, Ltd: **2003**; Vol. 3, 745; b) Hu, J., Son, D. Y., *Macromolecules* **1998**, 31, 8644.
- [48] Van der Made, A. W., Van Leeuwen, P. W. N. M., *Chem. Commun.* **1992**, 1400.
- [49] Zhou, L. L., Roovers, J., *Macromolecules* **1993**, 26, 963.
- [50] Seyferth, D., Son, D. Y., *Organometallics* **1994**, 13, 2682.
- [51] Lobete, F., Cuadrado, I., Casado, C. M., Alonso, B., Morán, M., Losada, J., *J. Organomet. Chem.* **1996**, 509, 109.
- [52] Islam, M. T., Shi, X., Balogh, L., Baker, J. R., Jr., *Anal. Chem.* **2005**, 77, 2063.
- [53] a) Striegel, A. M., Plattner, R. D., Willett, J. L., *Anal. Chem.* **1999**, 71, 978; b) Bu, L., Nonidez, W. K., Mays, J. W., Tan, N. B., *Macromolecules* **2000**, 33, 4445.

- [54] Brothers, H. M., Piehler, L. T., Tomalia, D. A., *J. Chromatogr. A* **1998**, *814*, 233.
- [55] a) Prof. Dr. Fritz Vögtle, D. G. R., Dr. Nicole Werner, *Dendrimer Chemistry: Concepts, Syntheses, Properties, Applications*. **2009**; b) Ottaviani, M. F., Cangiotti, M., Fattori, A., Coppola, C., Posocco, P., Laurini, E., Liu, X., Liu, C., Fermeglia, M., Peng, L., Pricl, S., *Phys. Chem. Chem. Phys.* **2014**, *16*, 685; c) Badetti, E., Lloveras, V., Wurst, K., Sebastian, R. M., Caminade, A. M., Majoral, J. P., Veciana, J., Vidal-Gancedo, J., *Org. Lett.* **2013**, *15*, 3490.
- [56] a) Wijmenga, S. S., Hallenga, K., Hilbers, C. W., *J. Magn. Reson.* **1989**, *84*, 634; b) Spitzer, T. D., Martin, G. E., Crouch, R. C., Shockcor, J. P., Farmer, B. T., *J. Magn. Reson.* **1992**, *99*, 433; c) Chai, M., Pi, Z., Tessier, C., Rinaldi, P. L., *J. Am. Chem. Soc.* **1999**, *121*, 273; d) Chai, M., Niu, Y., Youngs, W. J., Rinaldi, P. L., *Macromolecules* **2000**, *33*, 5395.
- [57] Pinto, L. F., Riguera, R., Fernández-Megía, E., *J. Am. Chem. Soc.* **2013**, *135*, 11513.
- [58] Newkome, G. R., Young, J. K., Baker, G. R., Potter, R. L., Audoly, L., Cooper, D., Weis, C. D., Morris, K., Johnson, C. S., Jr., *Macromolecules* **1993**, *26*, 2394.
- [59] a) Karakaya, B., Claussen, W., Gessler, K., Saenger, W., Schlueter, A. D., *J. Am. Chem. Soc.* **1997**, *119*, 3296; b) Brewis, M., Clarkson, G. J., Goddard, V., Helliwell, M., Holder, A. M., McKeown, N. B., *Angew. Chem., Int. Ed.* **1998**, *37*, 1092; c) Mekelburger, H. B., Rissanen, K., Vogtle, F., *Chem. Ber.-Recl.* **1993**, *126*, 1161; d) Lambert, J. B., Pflug, J. L., Denari, J. M., *Organometallics* **1996**, *15*, 615; e) Lukin, O., Gramlich, V., Kandre, R., Zhun, I., Felder, T., Schalley, C. A., Dolgonos, G., *J. Am. Chem. Soc.* **2006**, *128*, 8964.
- [60] a) Fernández, G., Pérez, E. M., Sánchez, L., Martín, N., *J. Am. Chem. Soc.* **2008**, *130*, 2410; b) Li, J., Piehler, L. T., Qin, D., Baker, J. R., Jr., Tomalia, D. A., Meier, D. J., *Langmuir* **2000**, *16*, 5613; c) Bakshi, M. S., Sood, R., Kaur, G., Sakai, K., Yoshimura, T., Esumi, K., *Colloid Polym. Sci.* **2005**,

- 284, 74; d) Gu, Y., Xie, H., Gao, J., Liu, D., Williams, C. T., Murphy, C. J., Ploehn, H. J., *Langmuir* **2005**, *21*, 3122; e) Garzoni, M., Cheval, N., Fahmi, A., Danani, A., Pavan, G. M., *J. Am. Chem. Soc.* **2012**, *134*, 3349.
- [61] a) Álvarez-Alcalde, M., Jover, A., Meijide, F., Galantini, L., Pavel, N. V., Antelo, A., Tato, J. V., MDPI: **2007**; f003/1; b) Ottaviani, M. F., Favuzza, P., Bigazzi, M., Turro, N. J., Jockusch, S., Tomalia, D. A., *Langmuir* **2000**, *16*, 7368.
- [62] a) Hurst, S. K., Cifuentes, M. P., Humphrey, M. G., *Organometallics* **2002**, *21*, 2353; b) McDonagh, A. M., Powell, C. E., Morrall, J. P., Cifuentes, M. P., Humphrey, M. G., *Organometallics* **2003**, *22*, 1402.
- [63] a) Scott, R. W. J., Datye, A. K., Crooks, R. M., *J. Am. Chem. Soc.* **2003**, *125*, 3708; b) Pittelkow, M., Moth-Poulsen, K., Boas, U., Christensen, J. B., *Langmuir* **2003**, *19*, 7682.
- [64] Mowat, I. A., Donovan, R. J., Bruce, M., Feast, W. J., Stainton, N. M., *Eur. Mass Spectrom.* **1998**, *4*, 451.
- [65] Hummelen, J. C., Van, D. J. L. J., Meijer, E. W., *Chem. Eur. J.* **1997**, *3*, 1489.
- [66] a) Schwartz, B. L., Rockwood, A. L., Smith, R. D., Tomalia, D. A., Spindler, R., *Rapid Commun. Mass Spectrom.* **1995**, *9*, 1552; b) Tolic, L. P., Anderson, G. A., Smith, R. D., Brothers, H. M., II, Spindler, R., Tomalia, D. A., *Int. J. Mass Spectrom. Ion Processes* **1997**, *165/166*, 405.
- [67] Dvornic, P. R., Tomalia, D. A., *Macromol. Symp.* **1995**, *98*, 403.
- [68] Baytekin, B., Werner, N., Luppertz, F., Engeser, M., Brueggemann, J., Bitter, S., Henkel, R., Felder, T., Schalley, C. A., *Int. J. Mass Spectrom.* **2006**, *249/250*, 138.
- [69] a) Hecht, S., Fréchet, J. M. J., *Angew. Chem. Int. Ed.* **2001**, *40*, 74; b) Oosterom, G. E., Steffens, S., Reek, J. N. H., Kamer, P. C. J., Van Leeuwen, P. W. N. M., *Top. Catal.* **2002**, *19*, 61.
- [70] Rodríguez, L.-I., Rossell, O., Seco, M., Grabulosa, A., Muller, G., Rocamora, M., *Organometallics* **2006**, *25*, 1368.

- [71] Li, N., Echeverria, M., Moya, S., Ruiz, J., Astruc, D., *Inorg. Chem.* **2014**, *53*, 6954.
- [72] a) Luning, U., Hacker, W., *J. Prakt. Chem.* **1999**, *341*, 662; b) Luning, U., Marquardt, T., *J. Prakt. Chem.* **1999**, *341*, 222.
- [73] Archut, A., Vogtle, F., De Cola, L., Azzellini, G. C., Balzani, V., Ramanujam, P. S., Berg, R. H., *Chem. Eur. J.* **1998**, *4*, 699.
- [74] Caminade, A. M., John Wiley & Sons Ltd.: **2011**; 125.
- [75] Leshchiner, I., Boiko, N., Kumar, J., Richardson, R. M., Muzafarov, A., Shibaev, V., *Colloid Polym. Sci.* **2013**, *291*, 927.
- [76] a) Shifrina, Z. B., Rajadurai, M. S., Firsova, N. V., Bronstein, L. M., Huang, X., Rusanov, A. L., Muellen, K., *Macromolecules* **2005**, *38*, 9920; b) Tuerp, D., Nguyen, T. T. T., Baumgarten, M., Muellen, K., *New J. Chem.* **2012**, *36*, 282.
- [77] Shao, H., Lockman, J. W., Parquette, J. R., *J. Am. Chem. Soc.* **2007**, *129*, 1884.
- [78] Esposito, A., Delort, E., Lagnoux, D., Djojo, F., Reymond, J.-L., *Angew. Chem., Int. Ed.* **2003**, *42*, 1381.
- [79] a) Lindhorst, T. K., *Chem. Unserer Zeit* **2000**, *34*, 38; b) Thoma, G., Katopodis, A. G., Voelcker, N., Duthaler, R. O., Streiff, M. B., *Angew. Chem., Int. Ed.* **2002**, *41*, 3195.
- [80] a) Liu, L., Breslow, R., *J. Am. Chem. Soc.* **2003**, *125*, 12110; b) Amore, A., van Heerbeek, R., Zeep, N., van Esch, J., Reek, J. N. H., Hiemstra, H., van Maarseveen, J. H., *J. Org. Chem.* **2006**, *71*, 1851.
- [81] Darbre, T., Reymond, J.-L., *Acc. Chem. Res.* **2006**, *39*, 925.
- [82] Astruc, D., Boisselier, E., Ornelas, C., *Chem. Rev.* **2010**, *110*, 1857.
- [83] a) Jansen, J. F. G. A., de Brabander van den Berg, E. M. M., Meijer, E. W., *Science* **1994**, *266*, 1226; b) Jansen, J. F. G. A., Meijer, E. W., de Brabander van den Berg, E. M. M., *J. Am. Chem. Soc.* **1995**, *117*, 4417; c) Cram, D. J., Cram, J. M., Editors, *Container Molecules and Their Guests*. Royal Soc. Chem.: **1997**; 223.

- [84] a) Thomas, T. P., Majoros, I. J., Kotlyar, A., Kukowska-Latallo, J. F., Bielinska, A., Myc, A., Baker, J. R. J., *J. Med. Chem.* **2005**, *48*, 3729; b) Majoros, I. J., Thomas, T. P., Mehta, C. B., Baker, J. R., Jr., *J. Med. Chem.* **2005**, *48*, 5892.
- [85] a) Newkome, G. R., Moorefield, C. N., Keith, J. M., Baker, G. R., Escamilla, G. H., *Angew. Chem. Int. Ed.* **1994**, *33*, 666; b) Armspach, D., Catalini, M., Constable, E. C., Housecrofe, C. E., Phillips, D., *Chem. Commun.* **1996**, 1823.
- [86] Yiyun, C., Tongwen, X., *Eur. J. Med. Chem.* **2005**, *40*, 1188.
- [87] a) Liu, M., Kono, K., Fréchet, J. M. J., *J. Control. Release* **2000**, *65*, 121; b) Vutukuri, D. R., Basu, S., Thayumanavan, S., *J. Am. Chem. Soc.* **2004**, *126*, 15636.
- [88] Aizawa, H., Otomo, K., Honsho, N., Shimazaki, T., Villeneuve, M., Matsuoka, K., Hatano, K., Terunuma, D., *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2012**, *22*, 3564.
- [89] a) Zhou, J., Wu, J., Hafdi, N., Behr, J.-P., Erbacher, P., Peng, L., *Chem. Commun.* **2006**, 2362; b) Kostianen, M. A., Szilvay, G. R., Smith, D. K., Linder, M. B., Ikkala, O., *Angew. Chem., Int. Ed.* **2006**, *45*, 3538.
- [90] Misselwitz, B., Schmitt-Willich, H., Ebert, W., Frenzel, T., Weinmann, H.-J., *Magn. Reson. Mater. Phys., Biol. Med.* **2001**, *12*, 128.
- [91] Bermejo, J. F., Ortega, P., Chonco, L., Eritja, R., Samaniego, R., Müllner, M., de Jesús, E., de la Mata, F. J., Flores, J. C., Gómez, R., Muñoz-Fernández, A., *Chem. Eur. J.* **2007**, *13*, 483.
- [92] Chonco, L., Pion, M., Vacas, E., Rasines, B., Maly, M., Serramía, M. J., López-Fernández, L., de la Mata, F. J., Álvarez, S., Gómez, R., Muñoz-Fernández, M. A., *J. Control. Release* **2012**, *161*, 949.
- [93] a) Arnáiz, E., Vacas-Córdoba, E., Galán, M., Pion, M., Gómez, R., Muñoz-Fernández, M. A., de la Mata, F. J., *J. Polym. Sci., Part A: Polym. Chem.* **2014**, *52*, 1099; b) Galán, M., Sánchez Rodríguez, J., Jiménez, J. L., Relloso, M., Maly, M., de la Mata, F. J., Muñoz-Fernández, M. A., Gómez, R., *Org. Biomol. Chem.* **2014**, *12*, 3222.

- [94] García-Gallego, S., Cangiotti, M., Fiorani, L., Fattori, A., Muñoz-Fernández, M. Á., Gómez, R., Ottaviani, M. F., de la Mata, F. J., *Dalton Trans.* **2013**, *42*, 5874.
- [95] a) Chen, C. Z., Beck-Tan, N. C., Dhurjati, P., Van, D. T. K., LaRossa, R. A., Cooper, S. L., *Biomacromolecules* **2000**, *1*, 473; b) Chen, C. Z., Beck-Tan, N. C., Dhurjati, P., Van Dyk, T. K., LaRossa, R. A., Cooper, S. L., *Biomacromolecules* **2000**, *1*, 473; c) Ciepluch, K., Katir, N., El Kadib, A., Felczak, A., Zawadzka, K., Weber, M., Klajnert, B., Lisowska, K., Caminade, A. M., Bousmina, M., Bryszewska, M., Majoral, J. P., *Mol. Pharm.* **2012**, *9*, 448.

Capítulo 2

Síntesis de macromoléculas dendríticas carboxilato catiónicas

2.1 Introducción y objetivos

2.1.1 Moléculas dendríticas catiónicas

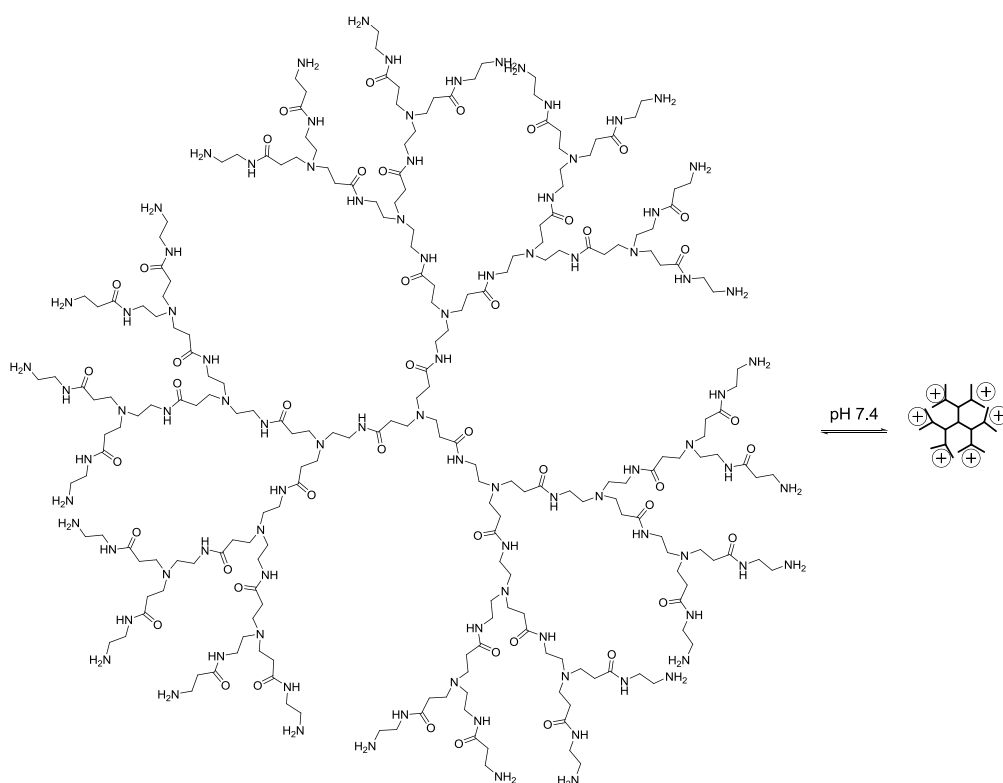
Tal y como ya se ha mencionado en el Capítulo 1, los dendrímeros catiónicos presentan interés en aplicaciones de tipo biomédico debido a la posibilidad de utilizarlos como agentes de transporte de material nucleico o fármacos aniónicos, además de como agentes terapéuticos debido a sus cualidades como agentes antibacterianos. Además, los dendrímeros catiónicos interaccionan con mayor facilidad que los dendrímeros aniónicos con las membranas celulares debido al carácter aniónico de éstas. En la presente memoria nos centraremos en la discusión de aquellos dendrímeros que son solubles en agua, puesto que el objetivo final del presente trabajo es la utilización de dendrímeros catiónicos de tipo carbosilano en aplicaciones biomédicas, para lo cual la solubilidad en dicho medio es importante.

Se han desarrollado numerosos tipos de dendrímeros de tipo catiónico que pueden ser clasificados en función de diversos criterios como la posición de la carga, su estructura o el tipo de grupos catiónicos presentes.¹

Respecto a los tipos de grupos que confieren el carácter catiónico a la estructura dendrítica destacan principalmente tres: los que contienen grupos amino o amonio, los que contienen grupos fosfonio o los que contienen metales en su estructura.

Entre los dendrímeros que contienen grupos amino o amonio existen claras diferencias en función del tipo de esqueleto que presentan las moléculas dendríticas. Por un lado, están las moléculas con un esqueleto hidrofílico que, si poseen grupos amino en la periferia, al situarse en agua, se autoprotonan. Por otro lado, están aquellas moléculas de esqueleto hidrofóbico en las cuales los grupos amino no confieren la solubilidad suficiente como para solubilizarlas en agua y por lo tanto es necesario transformar estos grupos amino en amonio para alcanzar la solubilidad necesaria.

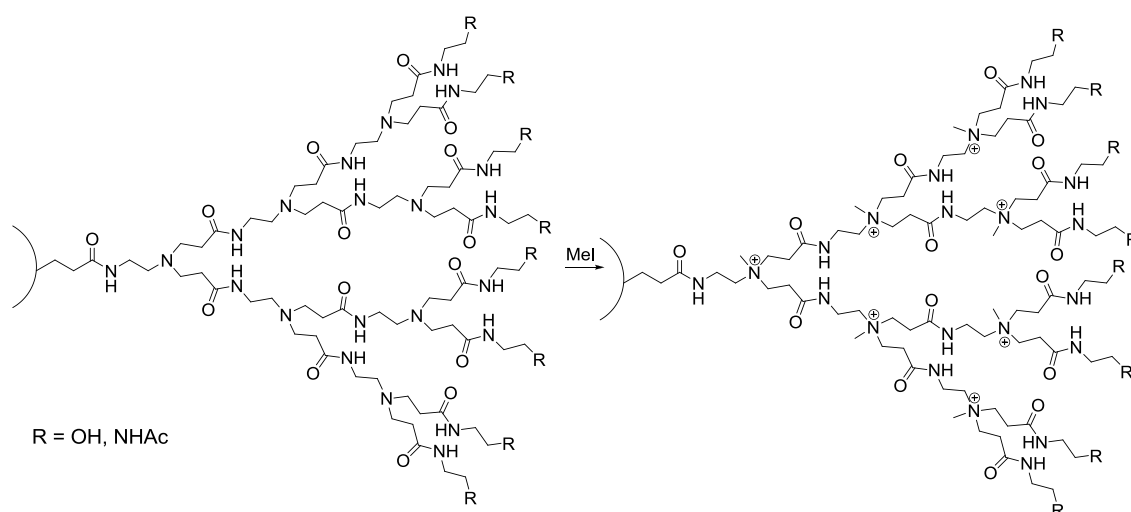
Dentro de los dendrímeros hidrofílicos con grupos amino se encuentran los dendrímeros PAMAM que poseen una gran cantidad de grupos amino en su estructura y que a pH fisiológico se protonan parcialmente generando derivados catiónicos (Esquema 2.1). Otro ejemplo de dendrímeros autoprotónables son los PPI,² debiéndose señalar que en todos los casos los nitrógenos internos no se cuaternizan a pH fisiológico, aunque es posible cargar dichos átomos mediante la adición de agentes protonantes o alquilantes generando compuestos con un mayor carácter catiónico.



Esquema 2.1 Protonación de un dendrímero PAMAM en agua.

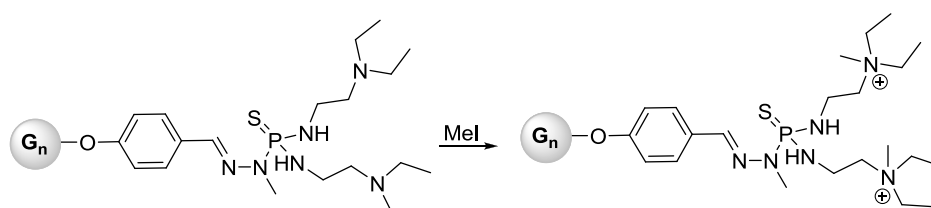
Ya que estos derivados constan de una gran cantidad de grupos amino, han surgido estudios en los que se disminuye la cantidad de grupos catiónicos en los mismos con el fin de estudiar la influencia en su actividad y toxicidad pudiendo establecer relaciones entre estructura y actividad. Así Minko y colaboradores³ proponen sistemas en los que dendrímeros PAMAM de cuarta generación son recubiertos con grupos alcohol (PAMAM-OH) y aceto (PAMAM-NHAc) bloqueando las aminas más externas mediante su transformación en grupos amida. Además se fuerza la cuaternización de los grupos amino internos con

yoduro de metilo con el fin de garantizar la presencia de carga positiva en la estructura (Esquema 2.2).⁴



Esquema 2.2 Síntesis de los dendrímeros con carga internalizada descritos por Minko.

En cuanto a los dendrímeros de esqueleto hidrofóbico, como por ejemplo aquellos que poseen átomos de fósforo (Esquema 2.3) o silicio en su estructura,⁵ es necesario que presenten grupos amonio periféricos para que sean solubles en agua. Al ser los dendrímeros carbosilano objeto de este trabajo, su síntesis y antecedentes serán objeto de una discusión más profunda más adelante en este capítulo.



Esquema 2.3 Síntesis de dendrímeros catiónicos con átomos de fósforo.

Los grupos fosfonio también se han utilizado como grupos catiónicos que posibilitan la solubilización de compuestos dendríticos en agua. Estos grupos pueden formar parte de la estructura dendrítica o utilizarse para funcionalizar la periferia de estos compuestos. Engel proporcionó el primer ejemplo de compuestos dendríticos que contienen grupos fosfonio en su estructura (Figura 2.1).⁶

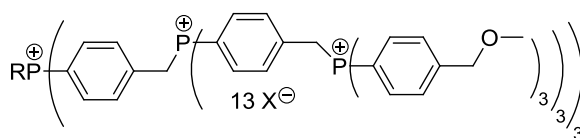
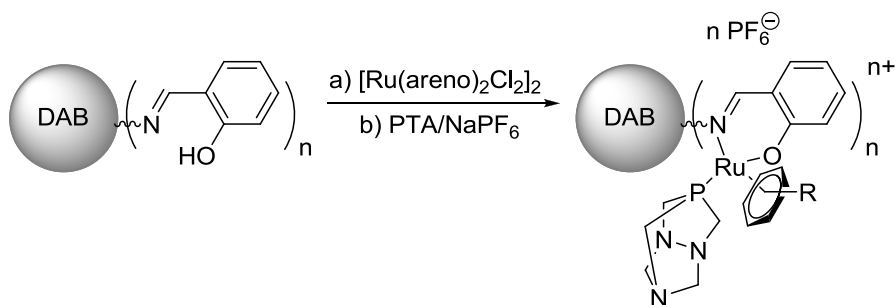


Figura 2.1 Dendrimeros que contienen grupos fosfonio sintetizados por Engel.

Un último grupo de dendrimeros catiónicos a tener en cuenta son aquellos cuya carga proviene de la interacción entre los grupos periféricos (ligandos) y metales con el fin de obtener compuestos útiles en catálisis⁷ o para aplicaciones biomédicas como los descritos por Smith para el tratamiento del cáncer (Esquema 2.4).⁸ Los métodos para llevar a cabo la síntesis de estos compuestos catiónicos son similares a los métodos para sintetizar compuestos de coordinación catiónicos.



Esquema 2.4. Síntesis de metalodendrimeros catiónicos útiles para el tratamiento del cáncer descritos por Smith.

2.1.2 Estructuras dendríticas heterofuncionalizadas

A pesar de que aumenta la dificultad sintética, es posible obtener estructuras dendríticas que presenten dos o más grupos funcionales, a los que denominaremos moléculas dendríticas heterofuncionalizadas. En el caso de dendrimeros esféricos estas funcionalidades se encuentran habitualmente en la periferia dendrítica, aunque existen algunos ejemplos donde se localizan en el interior del esqueleto.⁹ No obstante, esta última posibilidad ha sido menos explorada tanto por presentar una mayor exigencia sintética como porque las funcionalidades introducidas son menos accesibles. Otras aproximaciones implican la utilización de dendrones u otras estructuras más complejas.

Los compuestos heterofuncionalizados se pueden utilizar por ejemplo con el fin de aumentar la solubilidad, poder transportar fármacos, para introducir marcajes o productos útiles en resonancia de imagen. Además la introducción de los grupos funcionales adecuados permite su utilización simultánea para terapia y diagnóstico, aplicación conocida como teranóstica.¹⁰

2.1.2.1 Métodos de preparación de estructuras dendríticas heterofuncionalizadas

Existen varias estrategias que permiten sintetizar moléculas dendríticas heterofuncionalizadas. En primer lugar, los dendrones han surgido como una geometría dendrítica alternativa que permite la obtención de moléculas monodispersas heterofuncionalizadas. Si bien los primeros dendrones se desarrollaron en relación a los procesos de síntesis convergente de dendrímeros,¹¹ poco a poco su relevancia como moléculas independientes a los dendrímeros ha ido aumentando debido a su utilización en el autoensamblaje,¹² en su unión a metales,¹³ así como por la posibilidad de introducir en el punto focal, de manera básicamente ortogonal, ligandos, fármacos u otras moléculas de interés.¹⁴

En segundo lugar, los dendrímeros esféricos con diferentes funcionalidades en la periferia se pueden lograr mediante la unión de dos o más dendrones con distintos grupos funcionales y, en ocasiones, distinta generación (i), y la unión directa de varios grupos funcionales de forma precisa (ii) o estadística (iii). Además se pueden combinar dichas estrategias (iv).

- (i) Dendrímeros heterofuncionalizados por la unión de dos o más dendrones con distintos grupos funcionales

Estos dendrímeros se obtienen por la unión de varios dendrones entre sí dando lugar a moléculas dendríticas de estructura bien definida denominadas moléculas tipo Jano (Figura 2.2).¹⁵ Estos derivados se pueden obtener por acoplamiento directo entre dos dendrones,¹⁶ por acoplamiento a un núcleo o por crecimiento de un dendrón a partir del punto focal de una cuña dendrítica.¹⁷

Cuando se construye una cuña tipo Jano la proporción de grupos funcionales presentes de cada tipo depende de la generación de cada dendrón empleado.¹⁸

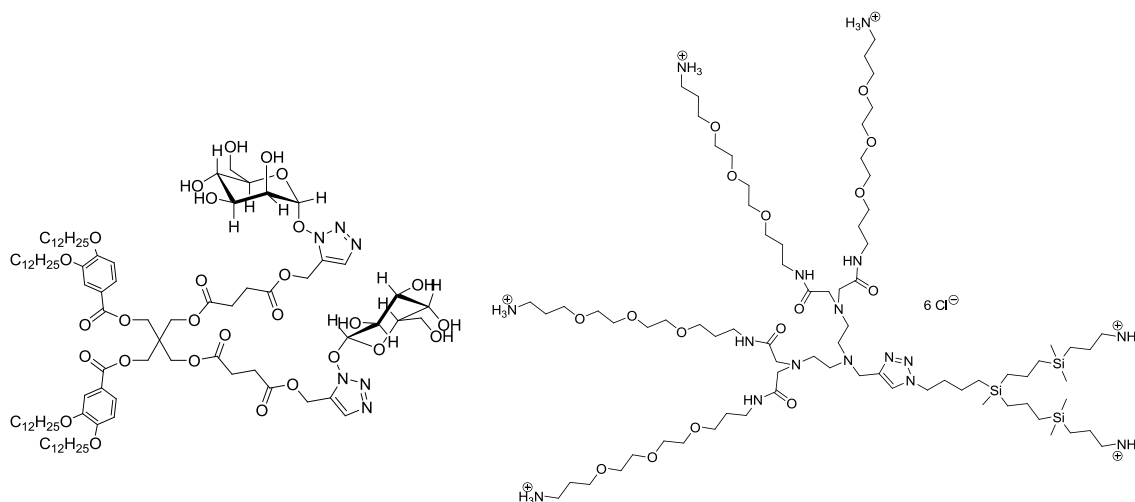
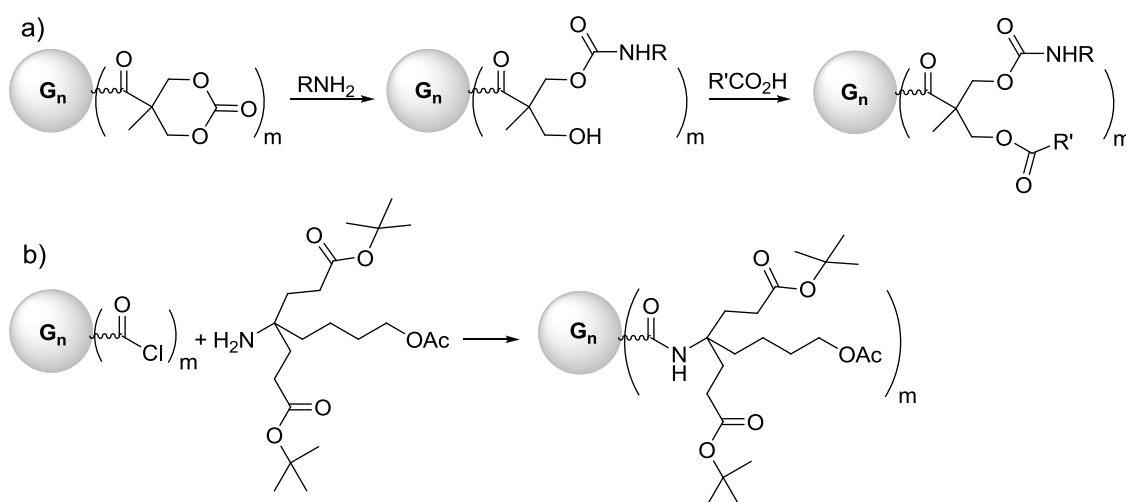


Figura 2.2 Glicodendrones tipo Jano descritos por Percec (izq.) y PEG-Carbosilano descrito por nuestro grupo de investigación (dcha.).

(ii) Funcionalización específica de la superficie dendrítica

La funcionalización específica de la superficie dendrítica se puede lograr de dos modos. Por reactividad específica de los grupos terminales, que permita heterofuncionalizar la estructura de los mismos (Esquema 2.5-a)¹⁹ o por la adición de monómeros con distintos grupos funcionales (Esquema 2.5-b) generando en ambos casos moléculas dendríticas de estructura bien definida.²⁰

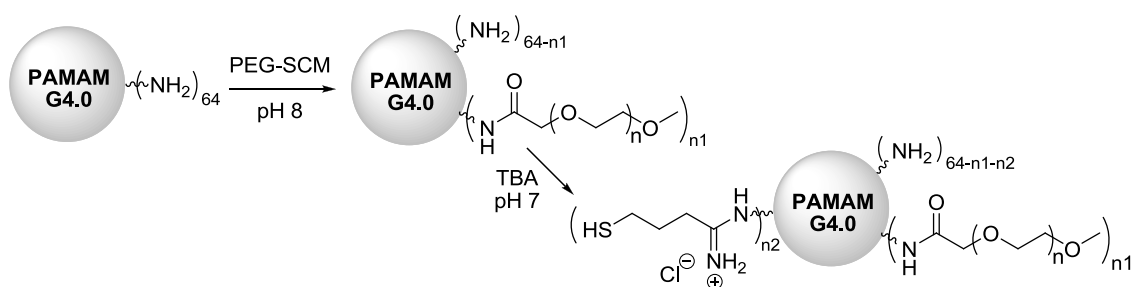


Esquema 2.5 Heterofuncionalización por a) reactividad específica del derivado y b) adición de un monómero con dos puntos reactivos distintos.

(iii) Funcionalización estadística de la superficie dendrítica

La funcionalización estadística es una técnica más sencilla que las anteriormente descritas, puesto que introduce grupos distintos a través de una funcionalización al azar de la periferia dendrítica. Por ello, no todas las moléculas dendríticas serán iguales, aumentando la dispersidad de los compuestos dendríticos.²¹

Un ejemplo de este tipo lo presenta Chiu²² que introduce polietilenglicol (PEG) y 4-tiobutilamidina (TBA) a dendrímeros PAMAM con el fin de reducir la toxicidad e incrementar la capacidad de los dendrímeros PAMAM para modular el eflujo de la glicoproteína P (Esquema 2.6).



Esquema 2.6 Heterofuncionalización de dendrímeros PAMAM descrita por Chiu.

(iv) Combinación de las estrategias anteriormente descritas

Las estrategias anteriores pueden ser combinadas con el fin de lograr mayor grado de heterofuncionalización. Un ejemplo lo presenta Weck,^{10a} que une en primer lugar dos dendrones formando un dendrímero tipo Jano, para posteriormente funcionalizar uno de dichos dendrones con un monómero que presenta dos grupos funcionales obteniendo así un dendrímero de tipo poliamida que contiene nueve grupos azida, nueve grupos fluoróforos y cincuenta y cuatro grupos ácido (Figura 2.3).

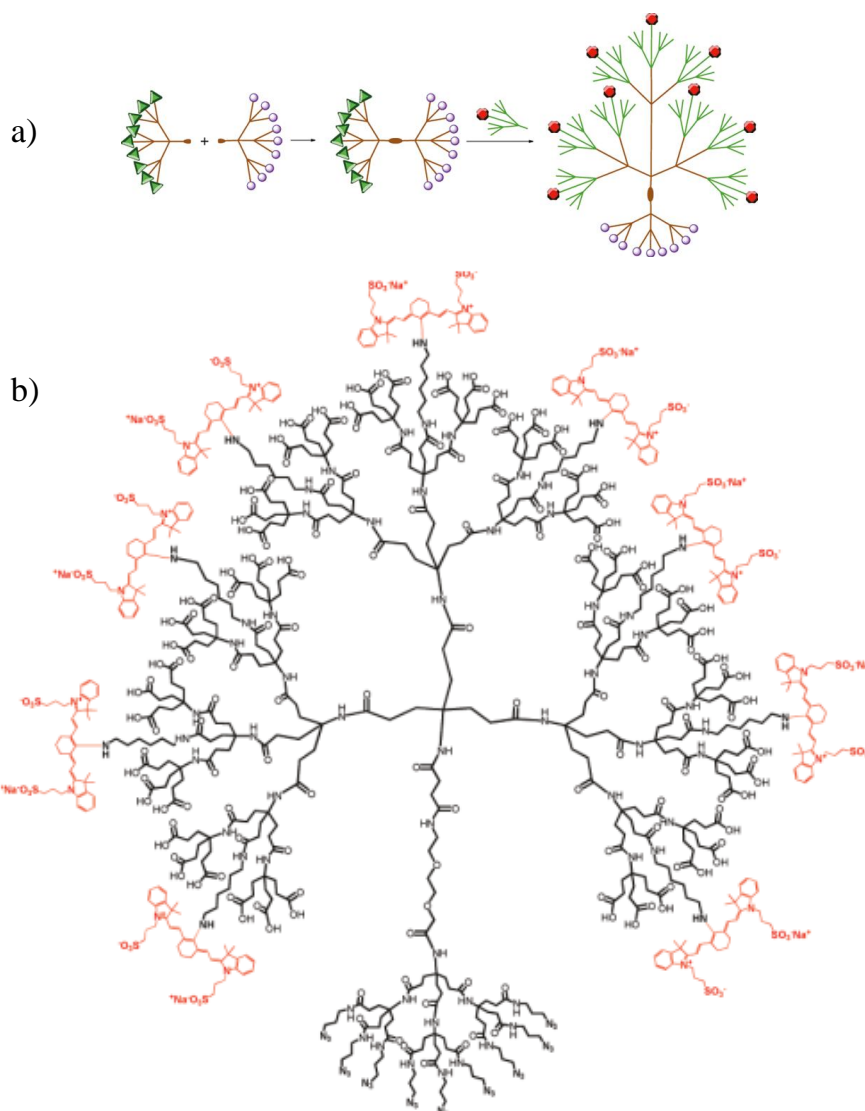
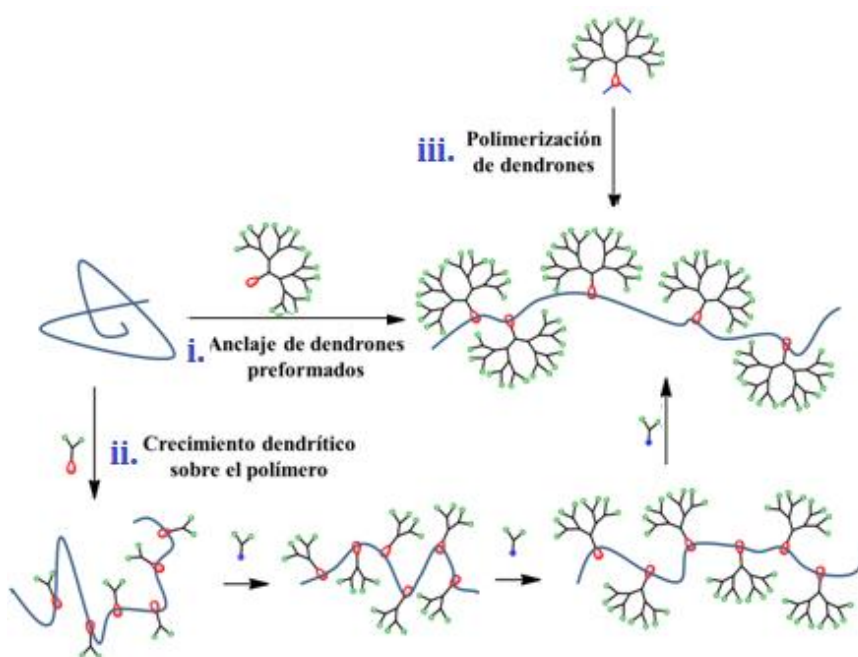


Figura 2.3 a) Proceso sintético seguido por Weck y b) dendrímero tipo poliamida obtenido mediante el mismo.

2.1.3 Obtención de estructuras dendríticas híbridas

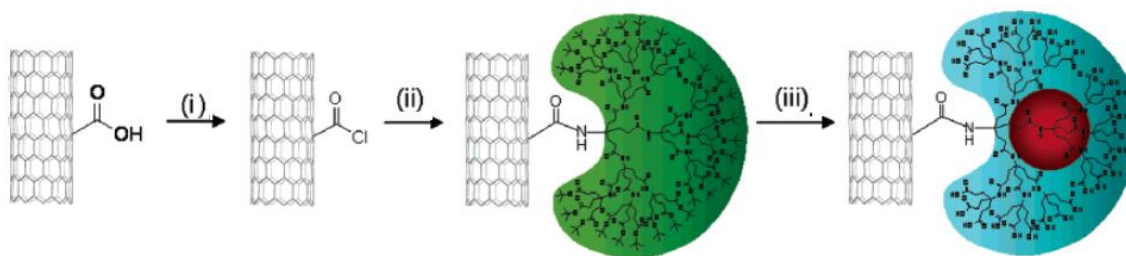
Los dendrones se pueden utilizar también para la obtención de estructuras dendríticas híbridas al combinarse con otras macromoléculas, proceso conocido como dendronización,²³ en la preparación de copolímeros²⁴ o polímeros dendronizados²⁵ y en su anclaje a superficies sólidas o a nanopartículas.²⁶ Con este proceso se obtienen nuevas estructuras que presentan en su superficie la multivalencia y el control estructural típico de los dendrímeros.

Los primeros polímeros dendronizados los describió Tomalia en 1987 como dendrímeros en forma de cilindro, debido a la estructura hipotética que presentan estas macromoléculas.²⁷ Para la dendronización de polímeros se han utilizado tradicionalmente tres métodos (Esquema 2.7): utilización del polímero i) como producto de partida al que anclar los dendrones o ii) donde iniciar el crecimiento dendrítico y iii) preparación de dendrones que pueden polimerizar a través de su punto focal.²³



Esquema 2.7 Métodos de dendronización de polímeros.

También se han utilizado dendrones para funcionalizar nanotubos de carbono (Esquema 2.8). Normalmente éstos son funcionalizados a través de la unión química de dendrones a la superficie por reacción entre los grupos terminales del nanotubo y el punto focal del dendrón,²⁸ aunque también se han descrito casos en los que se crece el dendrón sobre la superficie del nanotubo²⁹ o en los que el dendrón se une mediante interacciones π - π entre los anillos aromáticos presentes en su estructura y las paredes del nanotubo.³⁰ De manera similar se pueden funcionalizar otros materiales como sílica³¹ o grafeno.³²



Esquema 2.8 Dendronización de nanopartículas descrita por Hwang i) SOCl_2 ii) dendrón con grupo amino en el punto focal iii) a) HCO_2H b) $\text{Cd}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$, Na_2S .

Dendrimeros y dendrones también pueden contribuir a la estabilización de nanopartículas metálicas de diversas maneras (Figura 2.4): i) a través del encapsulamiento de las mismas en su punto focal, en el caso de dendrones; ii) por estabilización de los átomos metálicos en los huecos de la estructura de macromoléculas dendríticas; iii) por estabilización de las nanopartículas a través de los grupos periféricos de dendrimeros y dendrones.

El primer caso de dendronización descrito data de 2003.³³ En dicho trabajo se realizaba la dendronización de nanopartículas de oro con dendrones de tipo poliariléter con un grupo tiol en el punto focal.

Si bien la dendronización de nanopartículas se ha llevado a cabo de forma mayoritaria con nanopartículas metálicas,³⁴ existen también algunos ejemplos de modificación con dendrones de nanopartículas poliméricas,³⁵ generalmente orientadas para su uso en el campo de la medicina.

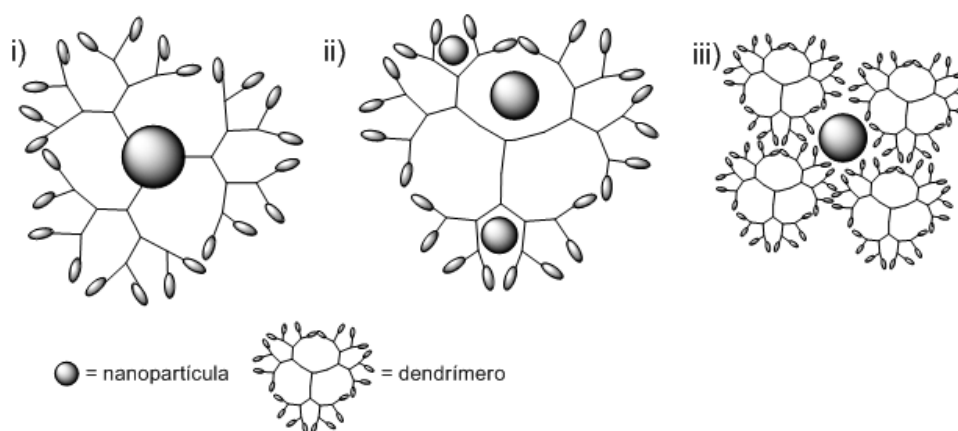
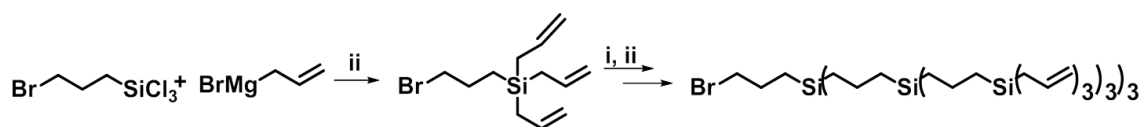


Figura 2.4 Estabilización de nanopartículas i) a través de dendronización ii) en los huecos de un dendrimer iii) por los grupos periféricos de los dendrimeros.

2.1.4 Estructuras dendríticas de tipo carbosilano

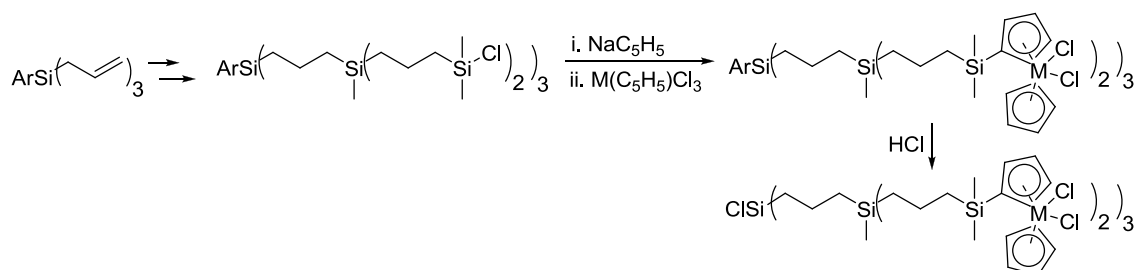
Los dendrímeros de tipo carbosilano, aquellos que contienen enlaces C-Si-C, se han obtenido tradicionalmente a través de una síntesis divergente basada en la secuencia iterativa de dos reacciones: alquenilación con reactivos de Grignard (vinilmagnesio o alilmagnesio) e hidrosililación con clorosilanos (HSiMeCl_2 , HSiCl_3 , $\text{HSiMeCH}_2\text{Cl}$ o HSiMe_2Cl).³⁶ Tal y como ya se comentó en el Capítulo 1 este tipo de dendrímeros se describieron inicialmente por Made,³⁷ Roovers,³⁸ Seyferth^{36d} y Morán.^{36b; 39}

Los primeros dendrones de tipo carbosilano fueron descritos por van Heerbeek en 1999.⁴⁰ Como punto focal se utilizaba un átomo de bromo, inerte a las reacciones posteriormente utilizadas. Estos derivados se sintetizaban de manera análoga a los dendrímeros carbosilano alternando reacciones de hidrosililación y alquenilación tal y como se muestra en el Esquema 2.9.



Esquema 2.9 Síntesis de dendrones carbosilano i) HSiCl_3 , $(\text{Bu}_4\text{N})_2\text{PtCl}_6$ ii) BrMgC_3H_5 .

Si el punto focal no es compatible con las reacciones de funcionalización del dendrón carbosilano, se puede sustituir por un grupo fenilsilano (PhSi-), que puede transformarse posteriormente en otras funciones reactivas de mayor interés (Esquema 2.10).⁴¹



Esquema 2.10 Estrategia de protección-desprotección empleada en la síntesis de dendrones carbosilano.

Existen algunos otros ejemplos en los que se explora en mayor profundidad la posibilidad de modificar el punto focal,^{26f; 42} sin embargo no se ha encontrado ningún trabajo previo en el que se presente la versatilidad de esta estrategia de manera amplia, salvo un trabajo realizado paralelamente en nuestro grupo de investigación enfocado a la síntesis de derivados aniónicos.⁴³

2.1.4.1 Estrategias sintéticas de obtención de dendrímeros carbosilano catiónicos

El esqueleto de los derivados de tipo carbosilano presenta una polaridad muy baja, razón por la que la solubilización en agua de dichos compuestos requiere la introducción de grupos polares en su periferia de forma que contrarresten la hidrofobicidad del resto de la molécula.^{36a; 44} Para lograr este objetivo y para la obtención de dendrímeros catiónicos, se suelen introducir grupos amino que son posteriormente cuaternizados con algún agente electrófilo como HCl, MeI, etc. logrando de esta manera solubilizarlos en agua.

Con el fin de introducir grupos amino en dendrímeros carbosilano se han utilizado diversas estrategias sintéticas. La primera de ellas fue descrita por Seyferth y consistía en la adición de amino tioles a dendrímeros con grupos SiCH₂Cl en la periferia, en un medio básico fuerte.^{36a}

Nuestro grupo de investigación ha utilizado otras estrategias que permiten la introducción de grupos amonio en la periferia dendrítica. En primer lugar la alcoholisis de dendrímeros con grupos Si-Cl terminales con amino alcoholes.^{44d} Sin embargo, a pesar de que los compuestos obtenidos por alcoholisis han presentado buenos resultados como agentes de transporte no viral en terapia génica, la presencia en su estructura de enlaces Si-O fácilmente hidrolizables en disoluciones acuosas, limita su aplicabilidad.^{44a; 45}

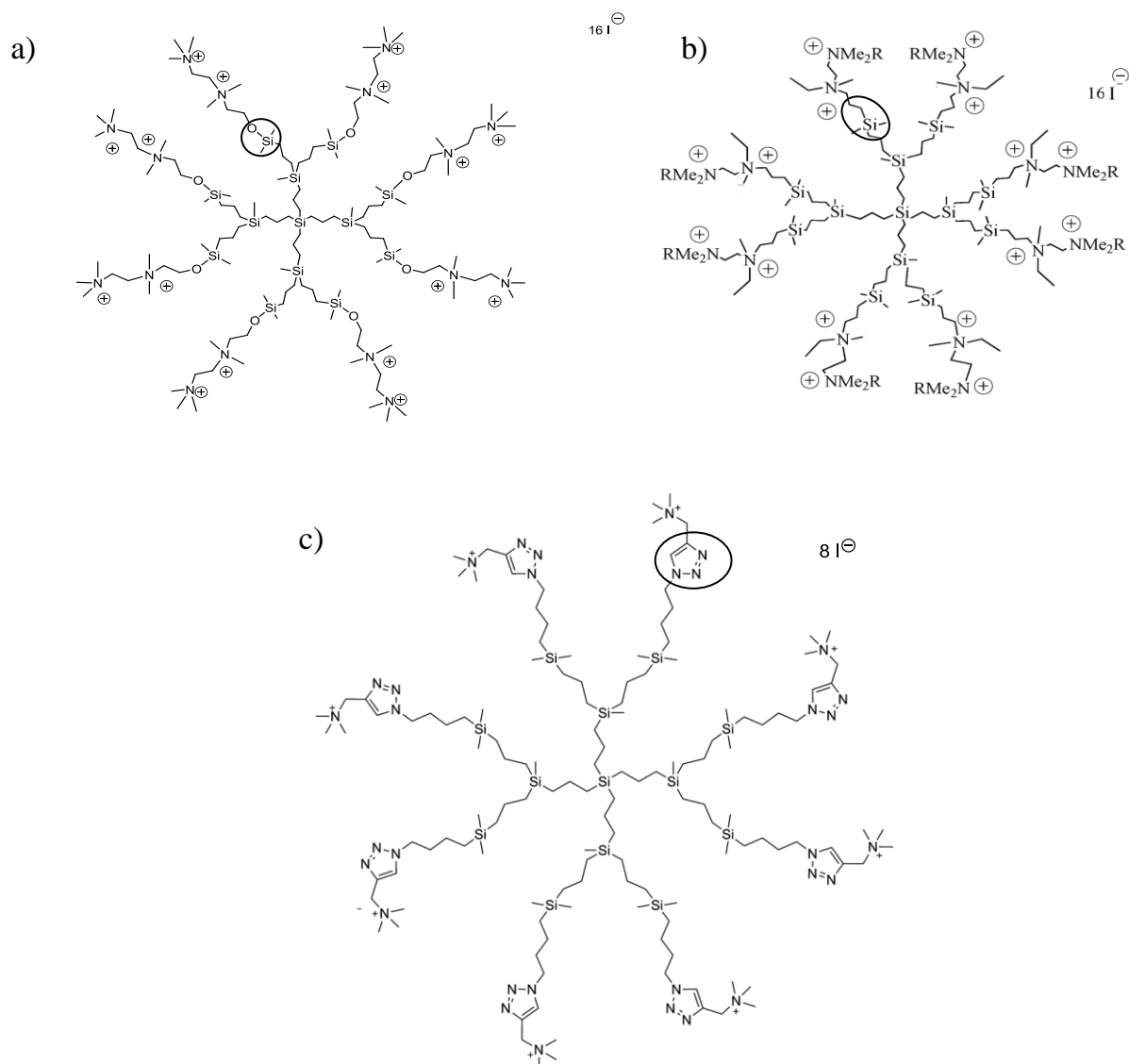


Figura 2.5 Estructuras de dendrímeros carbosilano catiónicos obtenidos por a) alcoholisis b) hidrosililación c) cicloadición de Huisgen.

Por ello, nuestro grupo de investigación realizó la sustitución del enlace Si-O por un enlace estable, Si-C, funcionalizando los dendrímeros a través de la hidrosililación de alilaminas con dos nitrógenos por rama con dendrímeros que contienen grupos Si-H en la periferia (Esquema 2.11-a).⁴⁶ Dicho proceso sintético precisa la utilización de catalizadores de platino, calefacción y tiempos de reacción que oscilan entre 24 y 72 h. Además, la necesidad de modificar la periferia dendrítica con el fin de introducir grupos Si-H en lugar de los grupos alqueno de los precursores dendríticos, implica un mayor número de pasos en el proceso sintético. Por otra parte, debido a la utilización de sistemas inestables en

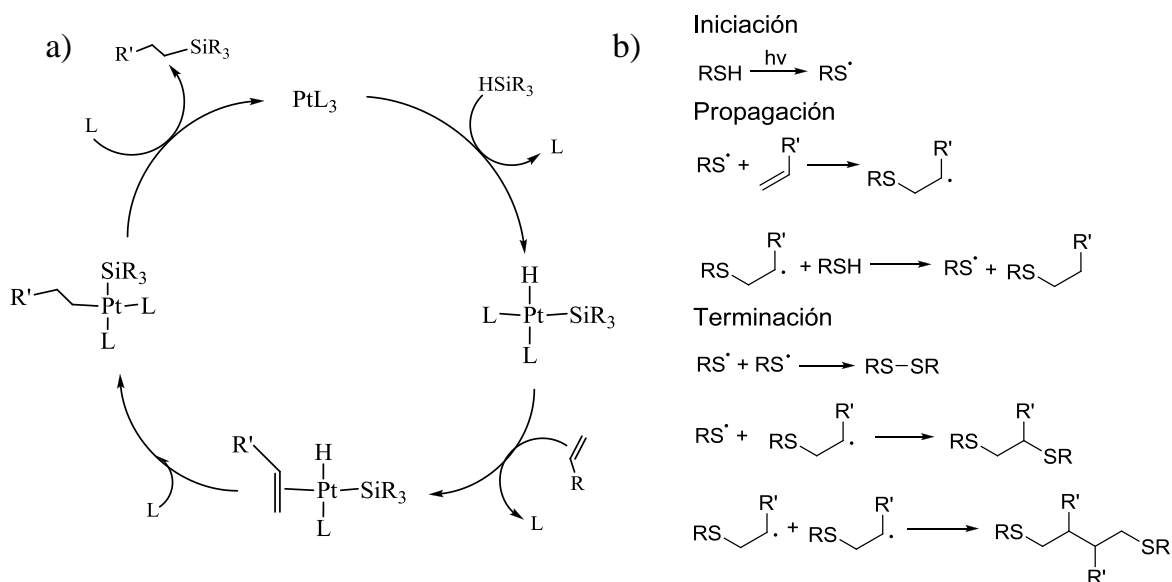
atmósfera ordinaria, HSiMe_2Cl y LiAlH_4 , hay que ser cuidadoso en la manipulación para evitar procesos secundarios que afecten al producto final. Estos compuestos dendríticos con dos grupos amino por rama generaban una interacción muy fuerte con el material nucleico, dando lugar a nanoconjugados muy estables, que desafortunadamente dificultaban la liberación del mismo.⁴⁷

Teniendo en cuenta que la hidrosililación se ve afectada por los grupos cercanos al doble enlace a hidrosililar y que por ello requiere un control estricto de las condiciones de reacción, se buscó realizar la síntesis de dendrímeros carbosilano catiónicos haciendo uso de la cicloaddición tipo Huisgen catalizada por cobre entre dendrímeros con grupos azida terminales y alquínil aminas.⁴⁸ Si bien los dendrímeros obtenidos por cicloaddición de Huisgen facilitan la funcionalización y permiten obtener una gran cantidad de derivados estables con buenos rendimientos, implican una ruta sintética más larga debido a la necesidad de introducir el grupo azida terminal.^{48a}

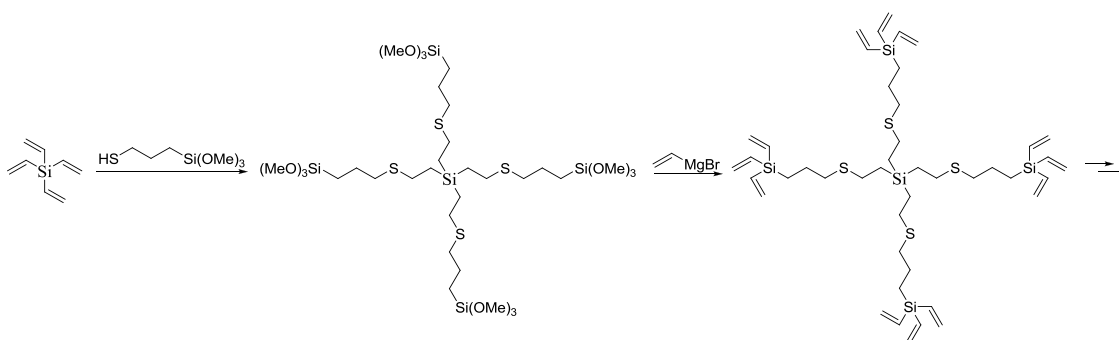
Tal y como se ha ido resaltando, las principales ventajas y desventajas de estos procesos sintéticos derivan de la facilidad para introducir los grupos reactivos a partir de los alquenos presentes en los precursores dendríticos. Por ello, un factor interesante es la reducción del número de pasos sintéticos entre el doble enlace presente en la estructura carbosilano y la introducción del grupo funcional. Una manera de acortar el proceso sintético es utilizar como estrategia de funcionalización la adición tiol-eno o hidrotiolación a dendrímeros que contienen dobles enlaces terminales.⁴⁹

La hidrotiolación presenta también otras ventajas como son la utilización de reactivos estables al aire, una gran tolerancia frente a grupos funcionales y disolventes, así como una gran selectividad y ausencia de subproductos. La adición tiol-eno forma parte de la serie de reacciones que componen la química *click*, definida inicialmente en 2001 por Sharpless y colaboradores⁵⁰ y que abarca las transformaciones químicas más eficaces entre las que se pueden destacar la cicloaddición 1,3-dipolar de Huisgen catalizada por cobre y la adición tipo tiol-eno o tiol-ino que sigue un mecanismo de tipo radicalico (Esquema 2.11-b). La

combinación y simplicidad de reacciones tipo *click* permitió a Hawker obtener un dendrímero de sexta generación en un día.⁵¹ La reacción de hidrotiolación es en cierta medida similar a la hidrosililación en la que se sustituye el átomo de silicio por el átomo de azufre. Además, la formación del isómero interno puede despreciarse frente a la formación del isómero externo. Por ello, las ventajas sintéticas de esta reacción frente a la hidrosililación llevaron a Son y colaboradores a construir dendrímeros carbosilano en los que se sustituyera por completo la reacción de hidrosililación por la reacción de adición tipo tiol-eno.⁵² Finalmente, es importante considerar que la sustitución de un heteroátomo pobre electrónicamente (Si) por uno rico en electrones (S), podría alterar las propiedades del dendrímero al variar la polaridad del mismo



Esquema 2.11 Mecanismo de la reacción de a) hidrosililación b) adición tiol-eno.



Esquema 2.12 Secuencia sintética utilizada por Son et al. para la obtención de dendrímeros carbosilano sustituyendo la hidrosililación por hidrotiolación.

2.1.4.2 Nomenclatura

Antes de continuar con la descripción de la síntesis de las estructuras dendríticas de tipo carbosilano objeto de la presente memoria, conviene aclarar la terminología que se utilizará a lo largo de la misma, ya que debido a la complejidad estructural de estas macromoléculas no es sencillo nombrarlas de acuerdo a los criterios de la IUPAC.

a) Nomenclatura de dendrímeros

Los dendrímeros esféricos descritos en el presente capítulo se nombrarán como $G_n Y X_m$ donde,

G: representa el esqueleto carbosilano.

n: se refiere a la generación dendrítica, es decir, al número de capas que se han adicionado al núcleo.

Y: indica el tipo de núcleo que posee el dendrímero.

X: indica la naturaleza de los grupos funcionales que se encuentran en la periferia.

m: el número de grupos funcionales terminales.

En la Figura 2.6 se muestra de modo esquemático la estructura del esqueleto carbosilano de estos sistemas. Cabe destacar que en la presente tesis doctoral se han utilizado dendrímeros con dos tipos de núcleo, uno que contiene un átomo de silicio tetravalente, derivados de tetraalilsilano (Si, Figura 2.6-a) y otro que contiene un fragmento polifenólico derivado del 1,3,5-trihidroxibenceno (O_3 , Figura 2.6-b), con el fin de comprobar si existe alguna variación en función debido a su tamaño, rigidez y el número de ramas generadas por ambos núcleos.

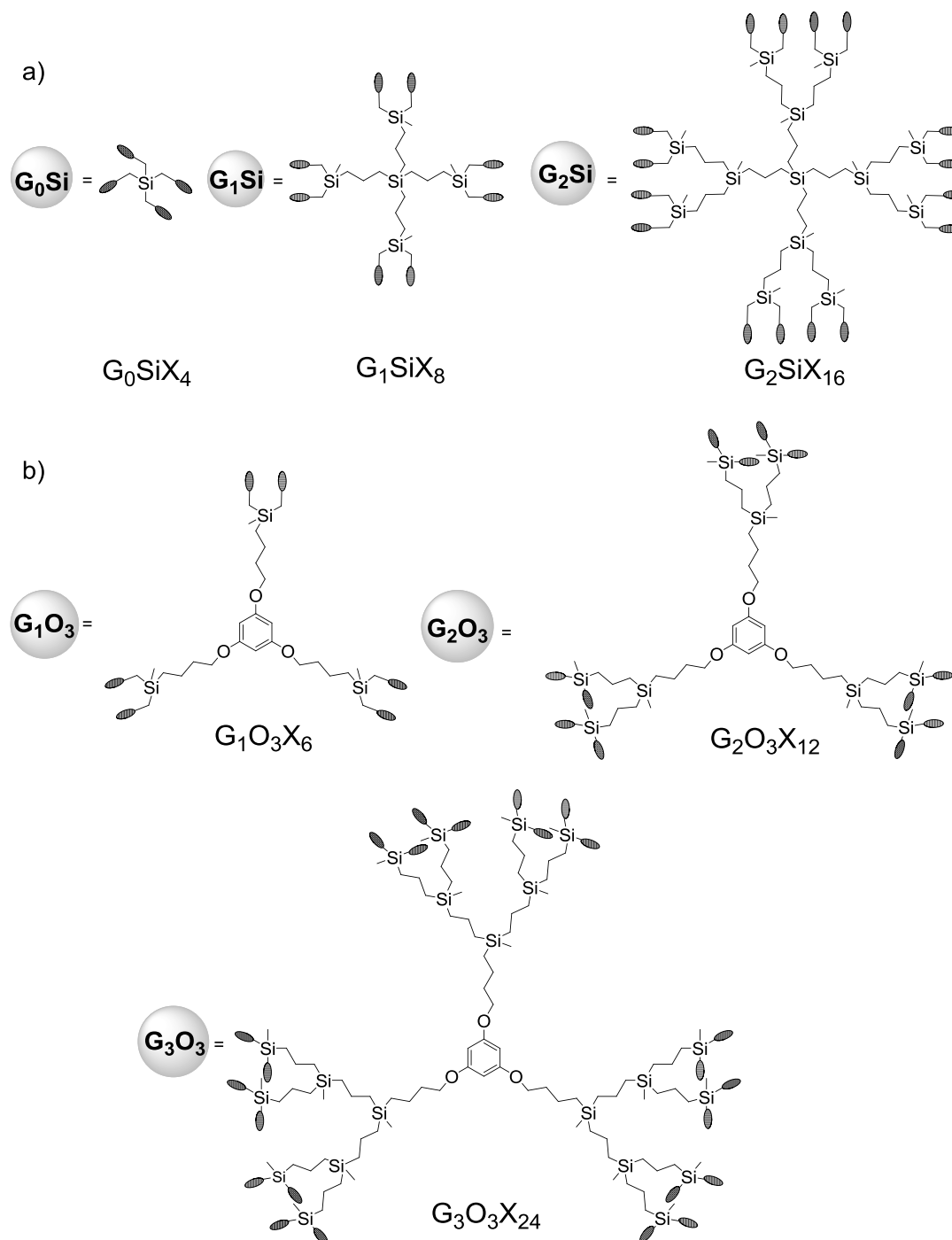


Figura 2.6 a) Esqueleto de los dendrímeros con núcleo de silicio (G_nSiX_m) b) Esqueleto de los dendrímeros con núcleo floroglucinol ($G_nO_3X_m$).

También se han empleado distintos grupos periféricos (X) que se nombrarán de forma abreviada como sigue, aunque en los apartados correspondientes se presentarán las estructuras desarrolladas:

- SiH: referido a grupos $-SiMe_2H$ periféricos.

- Si-NMe₂: correspondiente a grupos -NMe₂ periféricos en aquellos compuestos funcionalizados por hidrosililación.
- Si-NMe₃⁺: representa a grupos -NMe₃⁺ periféricos en aquellos compuestos obtenidos por hidrosililación.
- V: correspondiente a grupos vinilo (-CH=CH₂) terminales.
- S-NR₂·HCl: referido a grupos amonio -NR₂·HCl (donde R = H, Me) introducidos por adición tiol-eno.
- S-NR₂: representa a grupos amino -NR₂ (donde R = H, Me) incorporados por hidrotiolación.
- S-NR₃⁺: correspondiente a grupos amonio -NR₃⁺ (donde R = H, Me) en aquellos dendrímeros funcionalizados por adición tiol-eno.
- NRFITC (R = H ó Me): referido a grupos fluoresceína unidos al dendrímero a través de un enlace tiourea.
- S-OH: correspondiente a grupos alcohol primarios -OH presentes en la periferia dendrítica.

OCOibu: representa a grupos ibuprofeno unidos al dendrímero a través de un enlace éster.

b) Nomenclatura de dendrones

Las cuñas dendríticas descritas en el presente capítulo se nombrarán como YG_nX_m donde,

Y: indica el átomo o grupo en el punto focal.

G: representa el esqueleto carbosilano.

n: se refiere a la generación dendrítica, es decir, al número de capas que se han adicionado al punto focal.

X: indica la naturaleza de los grupos funcionales que se encuentran en la periferia.

m: es el número de grupos funcionales terminales.

En la Figura 2.7 se muestra de modo esquemático la estructura del esqueleto carbosilano de estos sistemas.

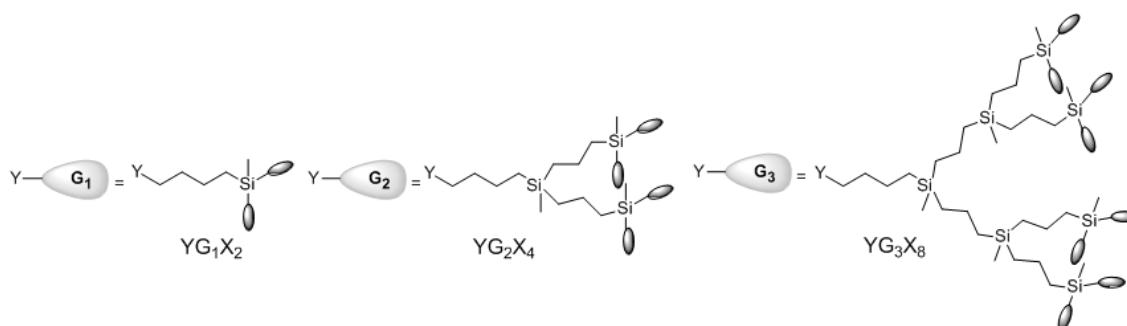


Figura 2.7 Esqueleto de las cuñas dendríticas (YG_nX_m).

Los puntos focales (Y) empleados en este trabajo se nombrarán de forma abreviada tal y como se indica a continuación:

- N_3 : referido a un grupo azida $-N=N=N$.
- Pht: representa a un grupo ftalimida ($C_6H_4(CO)_2N-$).
- HOC_6H_4O : correspondiente a un grupo fenol derivado de la hidroquinona (HOC_6H_4OH).
- HOC_2H_4O : referido a un grupo alcohol derivado del etilenglicol (HOC_2H_4OH).
- NH_2 : correspondiente a un grupo amino primario $-NH_2$.
- NH_3^+ : representa a un grupo amonio primario $-NH_3^+$.
- FITCNR (R = H ó Me): referido a una molécula de isotiocianato de fluoresceína unida a través de un enlace tiourea.
- $IbuCO_2$: representa a una molécula de ibuprofeno unida a través de un enlace éster.
- $PenCO_2$: correspondiente a una molécula de penicilina unida a través de un enlace éster.

Los grupos periféricos empleados son idénticos a los indicados para los dendrímeros esféricos.

c) Nomenclatura de materiales híbridos

Los materiales híbridos descritos en este capítulo se nombrarán como X-N donde,

X indica el tipo de material funcionalizado.

N representa el número asignado al dendrón precursor utilizado para la funcionalización del mismo.

Los materiales (X) se nombrarán de forma abreviada como se indica a continuación:

AuNP: nanopartículas de oro estabilizadas por dendrímeros esféricos.

GL/PPI: correspondiente a glicodendrímeros de tipo PPI de cuarta generación.

G_nPCHO: referido a dendrímeros con átomos de fósforo de primera o segunda generación con grupos aldehído periféricos.

G₁PCL₂: representa dendrímeros con átomos de fósforo de primera generación que presentan grupos PSCl₂ terminales.

MSNP: referido a nanopartículas de sílice mesoporosa.

PLGANP: representa nanopartículas blandas de ácido poli(láctico-co-glicólico).

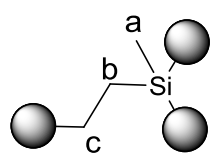
2.1.5 Características generales de la caracterización estructural de los compuestos descritos en la presente memoria

Las principales técnicas empleadas para la caracterización de los compuestos sintetizados y descritos en este capítulo han sido la espectroscopía de RMN (¹H, ¹³C, ¹⁵N, ²⁹Si, 1D y 2D), el análisis elemental y la espectrometría de masas. Los experimentos de RMN bidimensionales se han realizado principalmente en la primera generación por simplicidad, extrapolando los

desplazamientos a generaciones mayores. También se han utilizado para algunos derivados IR y UV-Vis con el fin de determinar grupos funcionales con señales características en estas técnicas. Los datos completos se encuentran en el apartado experimental de esta memoria, tras la descripción detallada de la síntesis de cada producto. Los datos analíticos y espectroscópicos obtenidos para los distintos dendrímeros son concordantes con las estructuras propuestas en la presente memoria.^{44a; 44d; 53}

Al ser la estructura dendrítica de naturaleza repetitiva, el desplazamiento químico en RMN de los átomos internos del dendrímero será prácticamente independiente tanto de la generación como de los grupos funcionales externos, si bien las señales se van haciendo más anchas a medida que aumenta la generación lo cual provoca un solapamiento de las señales. Este hecho se debe principalmente a (i) que núcleos que ocupan la misma posición en distintas capas de la molécula poseen desplazamientos químicos similares, pero no idénticos y, (ii) que se produce una restricción de la movilidad al aumentar la generación del dendrímero. Por ello, en la discusión de la caracterización por RMN de los compuestos sintetizados tan sólo se comentarán las señales correspondientes a la periferia o al punto focal, al ser las que se verán afectadas durante los procesos de funcionalización. A continuación se comentan las principales señales del esqueleto carbosilano de dendrímeros y dendrones en RMN.

Los esqueletos de las estructuras dendríticas de tipo carbosilano, que se exponen en esta memoria, constan estructuralmente de tres tipos de protones y carbonos con desplazamientos característicos en RMN-¹H y -¹³C (Tabla 2.1): los metilos adyacentes a silicio (a), los grupos metileno adyacentes a silicio (b) y el resto de grupos metileno (c, no adyacentes a silicio). Asimismo es característica, en el espectro de RMN-²⁹Si, la señal correspondiente a los silicios presentes en el esqueleto carbosilano que sólo tienen cadenas alifáticas alrededor, pudiéndose observar a 0.9-1 ppm. A lo largo de la presente tesis se marcarán las señales correspondientes al esqueleto carbosilano (CBS) con el símbolo # en los espectros.



	RMN- ¹ H	RMN- ¹³ C{ ¹ H}
a	-0.1 - 0	-6 - -5
b	0.5 - 0.6	17 - 20
c	1.3 - 1.5	17 - 20

Tabla 2.1 Desplazamientos aproximados (ppm) en RMN del esqueleto carbosilano.

Atendiendo al tipo de núcleo presente, en este trabajo se han empleado dos tipos de dendrímeros esféricos carbosilano (Si o 1,3,5-C₆H₃O₃; Figura 2.8). En los dendrímeros con núcleo polifenólico, el núcleo y las cadenas alquílicas adyacentes presentan en RMN resonancias bien diferenciadas entre sí, y específicas en comparación al resto de señales del esqueleto carbosilano. Así en estos compuestos son fácilmente distinguibles tanto el grupo -OCH₂- (3.8 ppm en ¹H y ≈ 68 ppm en ¹³C) como el grupo C₆H₃ (6.0 ppm en ¹H y ≈ 93 y 159 ppm en ¹³C). Además, el silicio correspondiente a la cadena interna en los dendrímeros con núcleo 1,3,5-C₆H₃O₃ (OCH₂CH₂CH₂CH₂Si) aparece a resonancias algo superiores debido a la influencia del átomo de oxígeno, desplazándose a 1.6-1.8 ppm aproximadamente, en ausencia de otros grupos que alteren su desplazamiento. En los compuestos con núcleo tetraalilsilano las cadenas propilénicas del fragmento SiCH₂CH₂CH₂Si, presentan resonancias en torno a 0.4 y 1.3 ppm, sólo distinguibles para el dendrímero de generación cero, mientras que en los dendrímeros de segunda y tercera generación coinciden sus desplazamientos con los del resto de cadenas análogas.

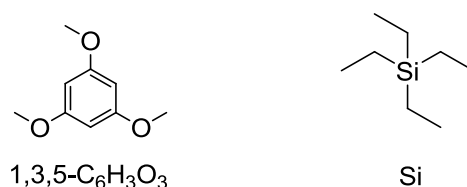


Figura 2.8 Representación de los dos tipos de núcleo presentes en los dendrímeros descritos en esta memoria.

Respecto a los dendrones, las señales correspondientes a la cadena alquílica entre el punto focal y el átomo de silicio más cercano presentan también resonancias bien diferenciadas de las del resto del esqueleto dendrítico, que

dependerán del sustituyente presente en el punto focal. Para los dendrones precursores con un átomo de bromo en el punto focal, se puede distinguir la resonancia correspondiente al metileno BrCH_2 que aparece en torno a δ 3.4 en RMN- ^1H y a δ 34 en ^{-13}C .

Las resonancias correspondientes a la cadena alquílica más cercana al punto focal o al núcleo dendrítico, así como las señales características de cada punto focal y del núcleo polifenólico se indicarán con el símbolo * en los espectros.

2.1.6 Objetivos del Capítulo 2

Teniendo en cuenta lo anteriormente descrito, los objetivos del Capítulo 2 son:

- i. Síntesis y caracterización de dendrímeros catiónicos con grupos $-\text{NMe}_3^+$ periféricos y un único nitrógeno por rama, con el fin de disminuir la interacción con ácidos nucleicos observada para los derivados análogos con dos nitrógenos por rama. Para ello se emplearán dos estrategias sintéticas. En primer lugar la hidrosililación de alildimetilamina ($\text{C}_3\text{H}_5\text{NMe}_2$) con dendrímeros con grupos Si-H terminales. En segundo lugar la hidrotiolación de dendrímeros con dobles enlaces en su estructura con tioles que contienen grupos amina.
- ii. Síntesis y caracterización de dendrímeros esféricos heterofuncionalizados estadísticamente con grupos amonio y otras funciones de interés (ibuprofeno y fluoresceína), para las aplicaciones objeto de estudio en esta tesis.
- iii. Síntesis y caracterización de dendrones de tipo carbosilano con grupos amino o amonio periféricos y con distintos puntos focales (ftalimida, amino, fenol y alcohol), con el fin de obtener moléculas heterofuncionalizadas de forma precisa que puedan utilizarse,

además, como bloques de construcción en la obtención de materiales híbridos.

- iv. Obtención de dendrones con moléculas de interés biomédico (ibuprofeno, fluoresceína y penicilina) en el punto focal.

2.2 Dendrímeros funcionalizados por hidrosililación

Para sintetizar estos derivados es preciso partir de dendrímeros que contengan enlaces Si-H en la periferia procediendo a su funcionalización con el correspondiente derivado olefínico, en nuestro caso alildimetilamina. La presencia de aminas de tipo terciario, como la aquí empleada, da lugar a ciertas ventajas frente a las aminas primarias, ya que algunos estudios han demostrado que las aminas primarias generan mayor toxicidad frente a células sanguíneas.³

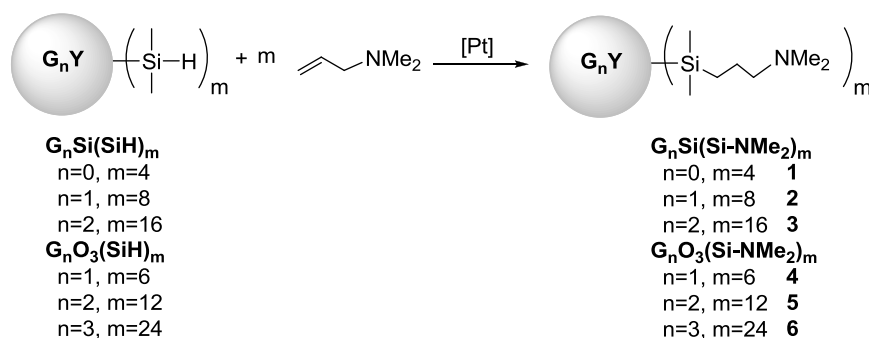
2.2.1 Estudio preparativo de los dendrímeros funcionalizados por hidrosililación

2.2.1.1 Síntesis de $G_nY(\text{Si-NMe}_2)_m$ (1-6)

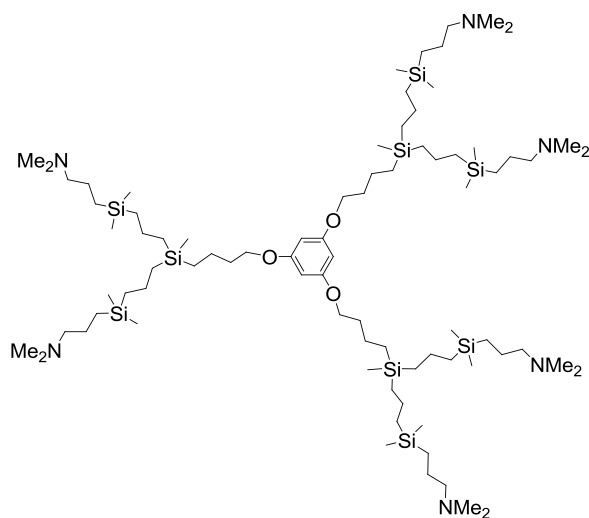
La síntesis de estos derivados se realiza por hidrosililación de alildimetilamina con los dendrímeros $G_nY(\text{SiH})_m$ ^{36c; 36e} a 60 °C durante 16 h y en presencia de catalizador de platino, obteniéndose así los dendrímeros con grupos amino terciarios $G_nY(\text{Si-NMe}_2)_m$ (Y = Si: n = 0, m = 4, **1**; n = 1, m = 8, **2**; n = 2, m = 16, **3**; Y = O₃: n = 1, m = 6, **4**; n = 2, m = 12, **5**; n = 3, m = 24, **6**) (Esquema 2.13, Figura 2.9). Estos compuestos se purifican por eliminación de los componentes más volátiles, como el exceso de alildimetilamina, obteniéndose como aceites amarillentos con altos rendimientos. Todos estos dendrímeros son solubles en disolventes orgánicos de uso común, aunque insolubles en agua. Hay que destacar que son estables al aire, aunque al tratarse de aminas pueden adquirir humedad, por lo que es conveniente almacenarlos en atmósfera seca.

Aunque el procedimiento empleado para obtener estos derivados, es el mismo que para la síntesis de los derivados análogos $G_nY(\text{Si-NH}_2)_m$, la hidrosililación de alilamina, C₃H₅NH₂, requiere temperaturas más altas (120 °C) y tiempos de reacción más largos (48 h) para generaciones superiores.^{36e} Además, dendrímeros de generaciones superiores con este grupo presentan una

gran tendencia a la agregación, fenómeno que no hemos observado en los análogos $G_nY(Si-NMe_2)_m$ (**1-6**).



Esquema 2.13 Síntesis de dendrímeros carbosilano con grupos amino por hidrosililación.

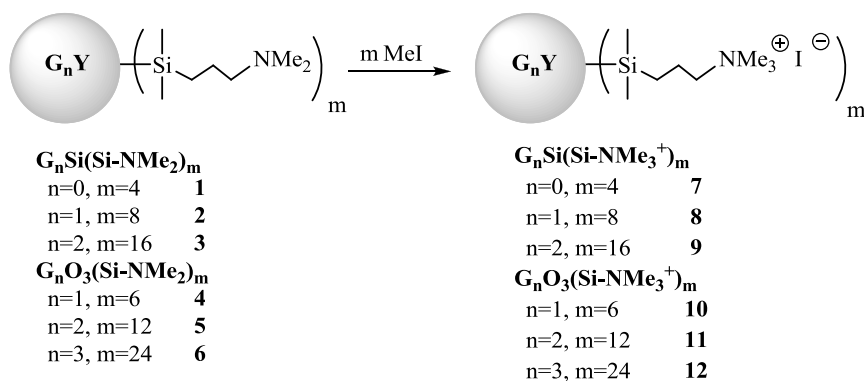


*Figura 2.9 Estructura del compuesto $G_1O_3(Si-NMe_2)_6$ (**4**).*

2.2.1.2 Síntesis de $G_nY(Si-NMe_3^+)_m$ (**7-12**)

Debido al tipo de esqueleto y a la ausencia de cargas en la periferia, los dendrímeros carbosilano $G_nY(Si-NMe_2)_m$ no son solubles en agua. Para lograr este objetivo, se debe contrarrestar de alguna manera la hidrofobia del esqueleto. Para ello, los dendrímeros con grupos amino terciarios terminales preparados anteriormente fueron cuaternizados con MeI, proporcionando macromoléculas con grupos amonio en la superficie. La reacción de los derivados $G_nY(Si-NMe_2)_m$ ($Y = Si: n=0, m=4, \mathbf{1}; n=1, m=8, \mathbf{2}; n=2, m=16, \mathbf{3}; Y = O_3: n=1, m=6, \mathbf{4}; n=2, m=12, \mathbf{5}; n=3, m=24, \mathbf{6}$) con un exceso de MeI, en éter dietílico como

disolvente y a temperatura ambiente, proporciona los compuestos $G_n Y(Si-NMe_3^+)_m$ ($Y = Si$: $n=0, m=4$, **7**; $n=1, m=8$, **8**; $n=2, m=16$, **9**; $Y = O_3$: $n=1, m=6$, **10**; $n=2, m=12$, **11**; $n=3, m=24$, **12**) (Esquema 2.14, Figura 2.10). Estos compuestos se aíslan tras evaporación de los componentes volátiles con rendimientos cuantitativos, como sólidos blancos, solubles en agua, alcoholes de cadena corta y DMSO, pero no en disolventes orgánicos menos polares.



Esquema 2.14 Síntesis de dendrímeros carbosilano con grupos amonio terminales a partir de precursores obtenidos por hidrosilación.

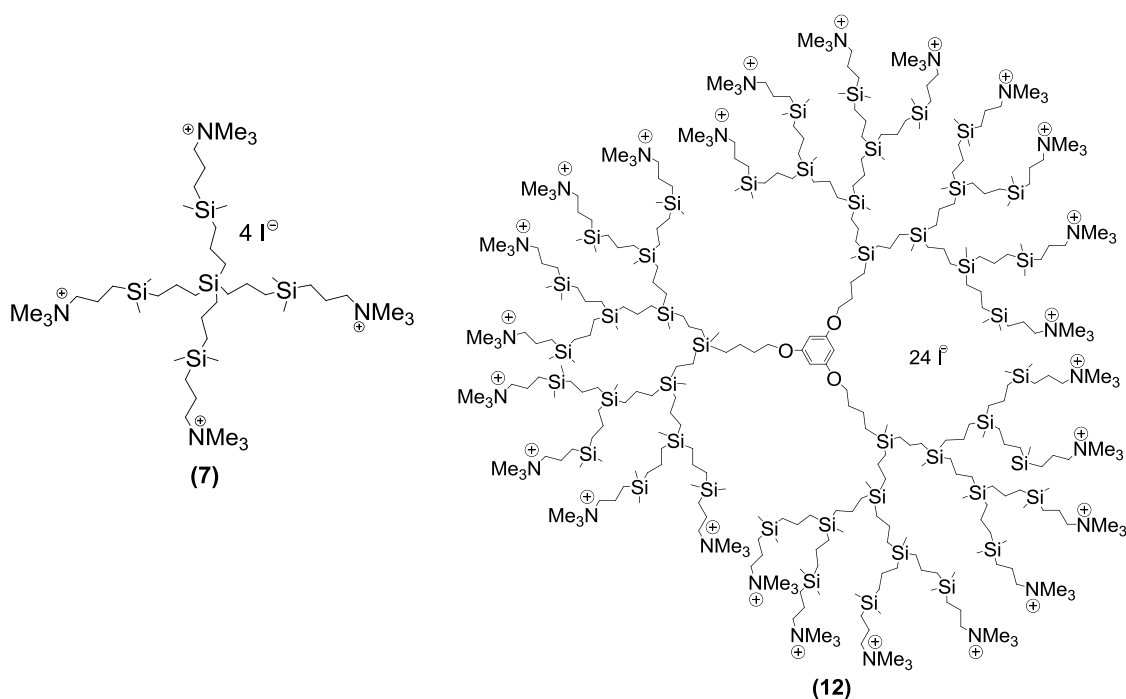


Figura 2.10 Estructura de los compuestos $G_0 Si(Si-NMe_3^+)_4$ (7) y $G_3 O_3(Si-NMe_3^+)_{24}$ (12).

2.2.2 Estudio estructural de los dendrímeros funcionalizados por hidrosililación

2.2.2.1 Caracterización de $G_n Y(Si-NMe_2)_m$ (1-6)

I. Espectroscopía de RMN

El seguimiento de la reacción de hidrosililación de los precursores $G_n Y(SiH)_m$ por espectroscopía de RMN permitió observar la desaparición del multiplete en torno a 4 ppm perteneciente al protón Si-H y del doblete entorno a 0 ppm perteneciente a los metilos del grupo $SiMe_2H$. La Figura 2.11 representa la cadena terminal de los dendrímeros **1-6**, cuyas características estructurales se discuten a continuación.

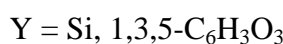
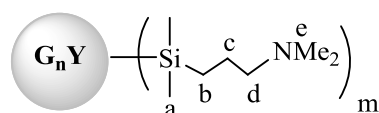


Figura 2.11 Denominación de los distintos tipos de carbono e hidrógeno presentes en la cadena externa de los dendrímeros $G_n Y(Si-NMe_2)_m$ (**1-3** y **4-6**).

La principal característica del espectro de RMN- 1H de estos compuestos es la señal en torno a 2.2 ppm en la que coinciden los protones de los grupos $-NMe_2$ y $-CH_2N-$. La presencia de la resonancia de dicho grupo $-CH_2N-$ coincidente con la de los metilos $-NMe_2$ se pone de manifiesto en los espectros TOCSY y HSQC{ $^1H-^{13}C$ } (Tabla 2.3). Además, el espectro TOCSY permite observar la nueva cadena introducida en la periferia dendrítica mediante la reacción de hidrosililación $-Si(CH_2)_3NMe_2$, cuyas resonancias aparecen a aproximadamente 2.2, 1.4 y 0.4 ppm para los distintos grupos metileno en orden de proximidad al átomo de nitrógeno (Figura 2.12). Por último, en torno a -0.07 ppm se encuentra la resonancia de los metilos del grupo $-SiMe_2-$.

	n=0 m=4 (1)	n=1 m=8 (2)	n=2 m=16 (3)	n=1 m=6 (4)	n=2 m=12 (5)	n=3 m=24 (6)
$Me_2SiCH_2CH_2CH_2N$ a	-0.08	-0.07	-0.07	-0.08	-0.07	-0.07
$SiCH_2CH_2CH_2N$ b	0.45	0.46	0.51	0.46	0.44	0.55
$SiCH_2CH_2CH_2N$ c	1.42	1.42	1.41	1.40	1.41	1.42
$SiCH_2CH_2CH_2NMe_2$ d, e	2.19	2.19	2.18	2.19	2.20	2.20

Tabla 2.2 Datos de RMN- 1H correspondientes a los compuestos $G_nY(Si-NMe_2)_m$ (**1-6**, δ , $CDCl_3$).

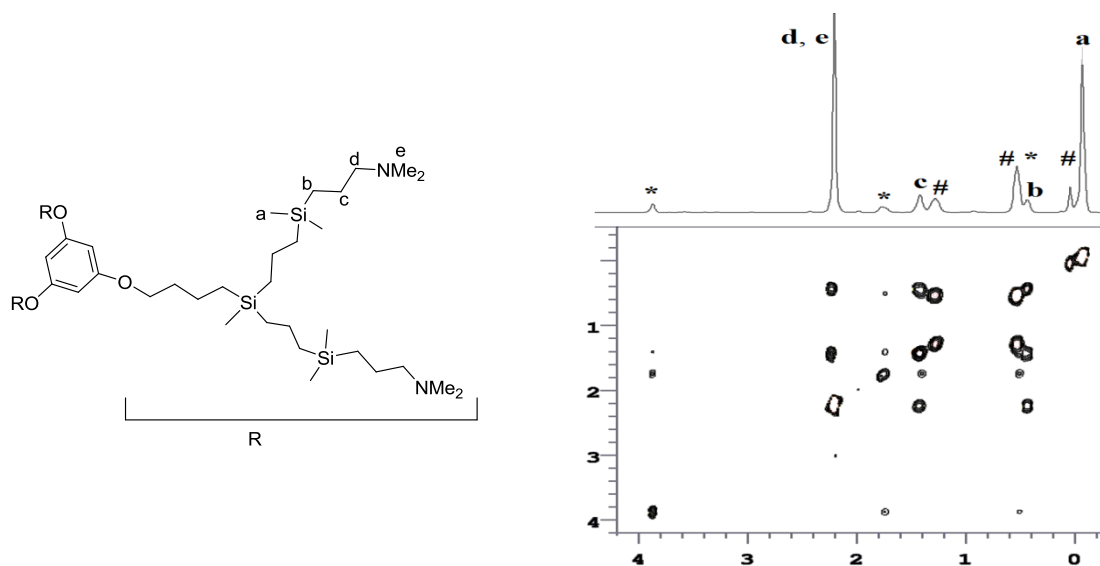


Figura 2.12 Detalle de TOCSY $\{^1H-^1H\}$ de $G_1O_3(Si-NMe_2)_4$ (**4**, δ , $CDCl_3$), # = CBS (esqueleto carbosilano), * = cadena unida al núcleo dendrítico.

Por otra parte, el espectro de RMN- ^{13}C (Figura 2.13, Tabla 2.3) se caracteriza por presentar dos señales correspondientes a los carbonos adyacentes a los átomos de N en torno a 63.4 (**d**) y 45.4 ppm (**e**), cuya asignación fue confirmada por un experimento HSQC $\{^1H-^{13}C\}$. Además, los grupos metilo unidos a átomos de silicio aparecen en torno a -3.3 ppm y los $-CH_2-$ adyacentes a Si de la nueva cadena terminal formada aparecen en torno a 12.8 ppm. Todos estos desplazamientos son típicos de estos grupos.

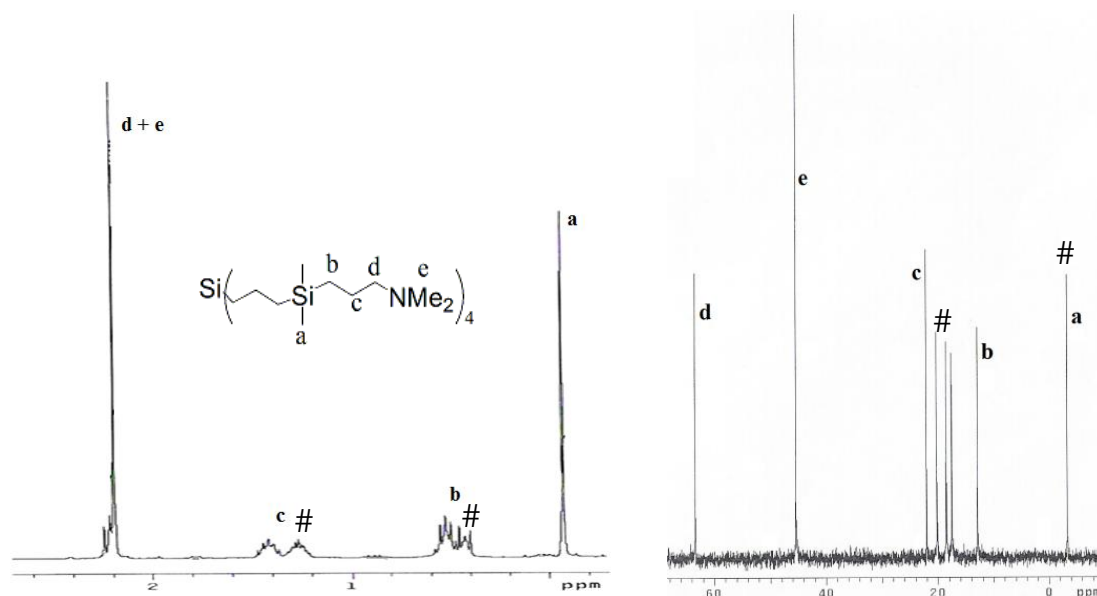


Figura 2.13 Espectros $RMN\text{-}^1H$ (izq.) y $RMN\text{-}^{13}C\{^1H\}$ (dcha.) del compuesto $G_0Si(Si-NMe_2)_4$ (**1**, δ , $CDCl_3$), # = CBS.

	n=1 m=4 (1)	n=2 m=8 (2)	n=3 m=16 (3)	n=1 m=6 (4)	n=2 m=12 (5)	n=3 m=24 (6)
$Me_2SiCH_2CH_2CH_2N$ a	-3.4	-3.3	-3.4	-3.3	-3.4	-3.2
$SiCH_2CH_2CH_2N$ b	12.8	12.9	12.9	12.8	12.8	12.9
$SiCH_2CH_2CH_2N$ c	22.1	22.0	22.1	22.0	22.0	22.1
$SiCH_2CH_2CH_2NMe_2$ e	45.4	45.4	45.4	45.4	45.4	45.4
$SiCH_2CH_2CH_2N$ d	63.4	63.4	63.4	63.3	63.3	63.4

Tabla 2.3 Datos $RMN\text{-}^{13}C\{^1H\}$ correspondientes a los compuestos $G_nY(Si-NMe_2)_m$ (**1-6**, δ , $CDCl_3$).

La realización de espectros bidimensionales $gHMBC\{^1H\text{-}^{29}Si\}$ permite observar la desaparición de la resonancia en torno a -14.6 ppm correspondiente a los Si más externos de los compuestos $G_nY(SiH)_m$, que se desplaza a 1.9 ppm al formarse la nueva cadena alquílica.

La presencia del grupo $-NMe_2$ en los compuestos **1-6** se confirma también por la resonancia en el espectro $gHMBC\{^1H\text{-}^{15}N\}$ próxima a -352 ppm para el átomo de nitrógeno.

II. Espectrometría de masas

Los espectros de masas MALDI-TOF muestran los picos correspondientes al ión molecular $[M+H]^+$ de los dendrímeros **1** ($m/z = 773.64$), **2** ($m/z = 1861.01$), **4** ($m/z = 1538.21$) y **5** ($m/z = 3165.50$). No fue posible detectar el pico de los dendrímeros de mayor generación **3** y **6**.

2.2.2.2 Caracterización de $G_n Y(Si-NMe_3^+)_m$ (7-12)

I. Espectroscopía de RMN

Los espectros de RMN- 1H y ^{13}C de los compuestos cuaternizados muestran un patrón de señales idéntico para el esqueleto carbosilano al observado en los correspondientes dendrímeros neutros $G_n Y(Si-NMe_2)_m$ **1-3** y **4-6**, aunque a medida que aumenta la generación las señales se hacen aún más anchas que en el caso de los compuestos neutros. Este ensanchamiento adicional de las señales se puede atribuir a la lipofilia del esqueleto carbosilano, debido a que en disolventes polares éste se encuentre menos extendido disminuyendo la movilidad de las ramas del dendrímero.

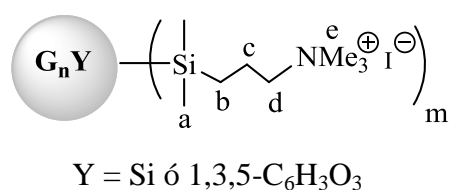


Figura 2.14 Denominación de los distintos tipos de carbono e hidrógeno presentes en la cadena externa de los dendrímeros $G_n Y(Si-NMe_3^+)_m$ **7-9** y **10-12**.

En el espectro de RMN- 1H (Figura 2.15-a, Tabla 2.4), el cambio más característico, respecto a los derivados neutros, es el desplazamiento de la señal perteneciente a los carbonos adyacentes al átomo de nitrógeno hacia frecuencias más altas (≈ 3 ppm), debido a la carga positiva del átomo de N que ejerce un mayor efecto desapantallante frente a los núcleos cercanos.

Por otra parte, en el espectro de RMN- ^{13}C (Figura 2.15-b, Tabla 2.5) se puede observar también un desplazamiento a mayores frecuencias de las señales de los carbonos adyacentes al átomo de nitrógeno que aparecen en torno a $\delta 67.4$

(d) y 51.6 (e). Su asignación fue confirmada por un experimento HSQC{ ^1H - ^{13}C } realizado para el dendrímico de primera generación.

	n=0 m=4 (7)	n=1 m=8 (8)	n=2 m=16 (9)	n=1 m=6 (10)	n=2 m=12 (11)	n=3 m=24 (12)
$\text{Me}_2\text{SiCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{N}^+ \mathbf{a}$	-0.01	-0.08	-0.08	-0.08	-0.08	-0.07
$\text{SiCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{N}^+ \mathbf{b}$	0.37	0.37	0.37	0.38	0.38	0.55*
$\text{SiCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{N}^+ \mathbf{c}$	1.62	1.61	1.62	1.63	1.62	1.62
$-\text{NMe}_3^+ \mathbf{e}$	3.04	3.04	3.08	3.05	3.05	3.05
$\text{SiCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{N}^+ \mathbf{d}$	3.24	3.25	3.28	3.25	3.27	3.26

Tabla 2.4 Datos RMN- ^1H correspondientes a los compuestos $G_nY(\text{Si-NMe}_3^+)_m$ (7-12, δ , DMSO- d_6). * Ensanchamiento de la señal que evita su distinción del resto de señales del esqueleto dendrítico.

	n=0 m=4 (7)	n=1 m=8 (8)	n=2 m=16 (9)	n=1 m=6 (10)	n=2 m=12 (11)	n=3 m=24 (12)
$\text{Me}_2\text{SiCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{N}^+ \mathbf{a}$	-3.9	-3.9	-3.9	-3.9	-3.9	-3.9
$\text{SiCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{N}^+ \mathbf{b}$	10.7	10.6	10.6	10.6	10.6	10.6
$\text{SiCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{N}^+ \mathbf{c}$	18.8	18.8	18.8	19.5	19.5	19.5
$-\text{NMe}_3^+ \mathbf{e}$	51.6	51.6	51.7	51.6	51.6	51.6
$\text{SiCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{N}^+ \mathbf{d}$	67.4	67.4	67.3	67.4	67.4	67.4

Tabla 2.5 Datos RMN- $^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ correspondientes a los compuestos $G_nY(\text{Si-NMe}_3^+)_m$ (7-12, δ , DMSO- d_6).

En el espectro bidimensional HMBC{ ^1H - ^{29}Si } para el dendrímico 7, es posible ver una señal en torno a δ 2.4 perteneciente al Si del grupo externo SiMe_2 .

En cuanto a los datos de HMBC{ ^1H - ^{15}N } de los compuestos 7-12 se observa una única señal alrededor de δ -322 que confirma la cuaternización de los nitrógenos. Ello supone un desplazamiento considerable hacia frecuencias mayores en comparación con el valor obtenido para los derivados neutros, que concuerda con la presencia de una carga positiva sobre los átomos de nitrógeno.

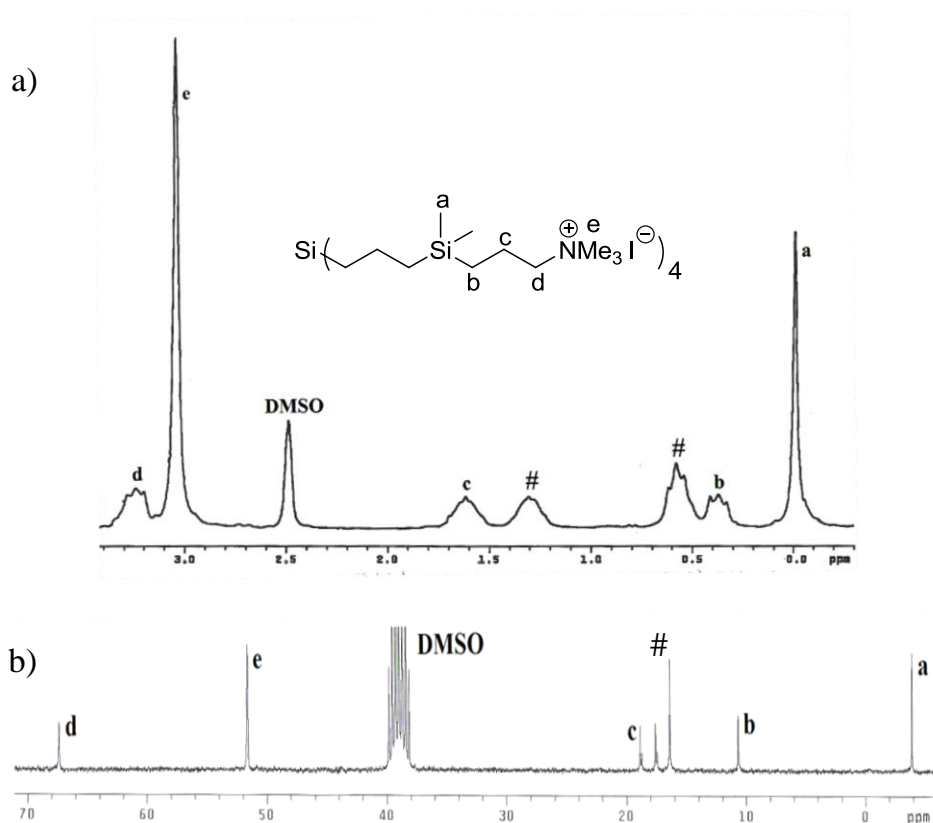


Figura 2.15 RMN a) ^1H y b) $^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ de $G_0\text{Si}(\text{Si-NMe}_3^+)_4$ (δ , DMSO-d_6), # = CBS.

II. Espectrometría de masas

En los espectros de masas MALDI-TOF, se observan los picos correspondientes a los iones $[\text{M-I}]^+$ de los dendrímeros **7** ($m/z = 1214.49$) y **10** ($m/z = 2261.81$). Los dendrímeros **8-9** y **11-12** fueron analizados por ESI observándose los picos del tipo $[\text{M-zI}]^{z+}$ para **8** ($z = 2$, $m/z = 1370.6$), **9** ($z = 5$, $m/z = 1132.7$) y **11** ($z = 4$, $m/z = 1090.2$). Para el dendrímero **12** de tercera generación no se observa ningún pico que pueda relacionarse con alguna de las especies $[\text{M-zI}]^{z+}$.

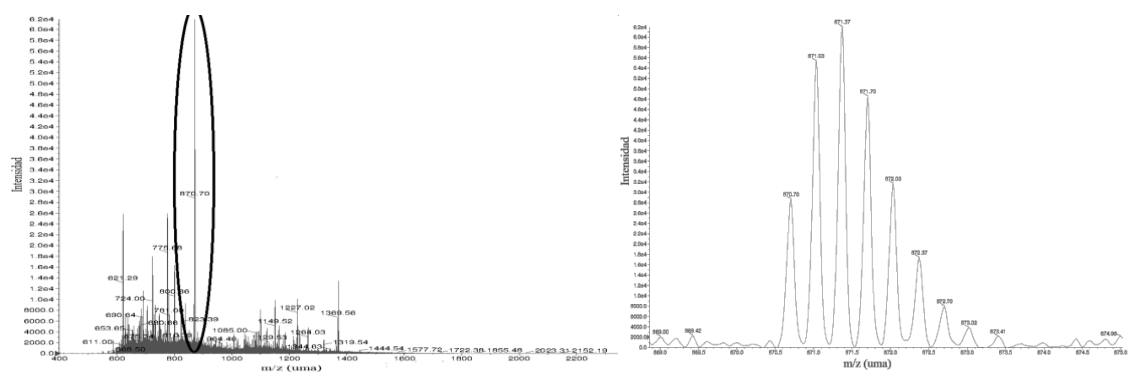


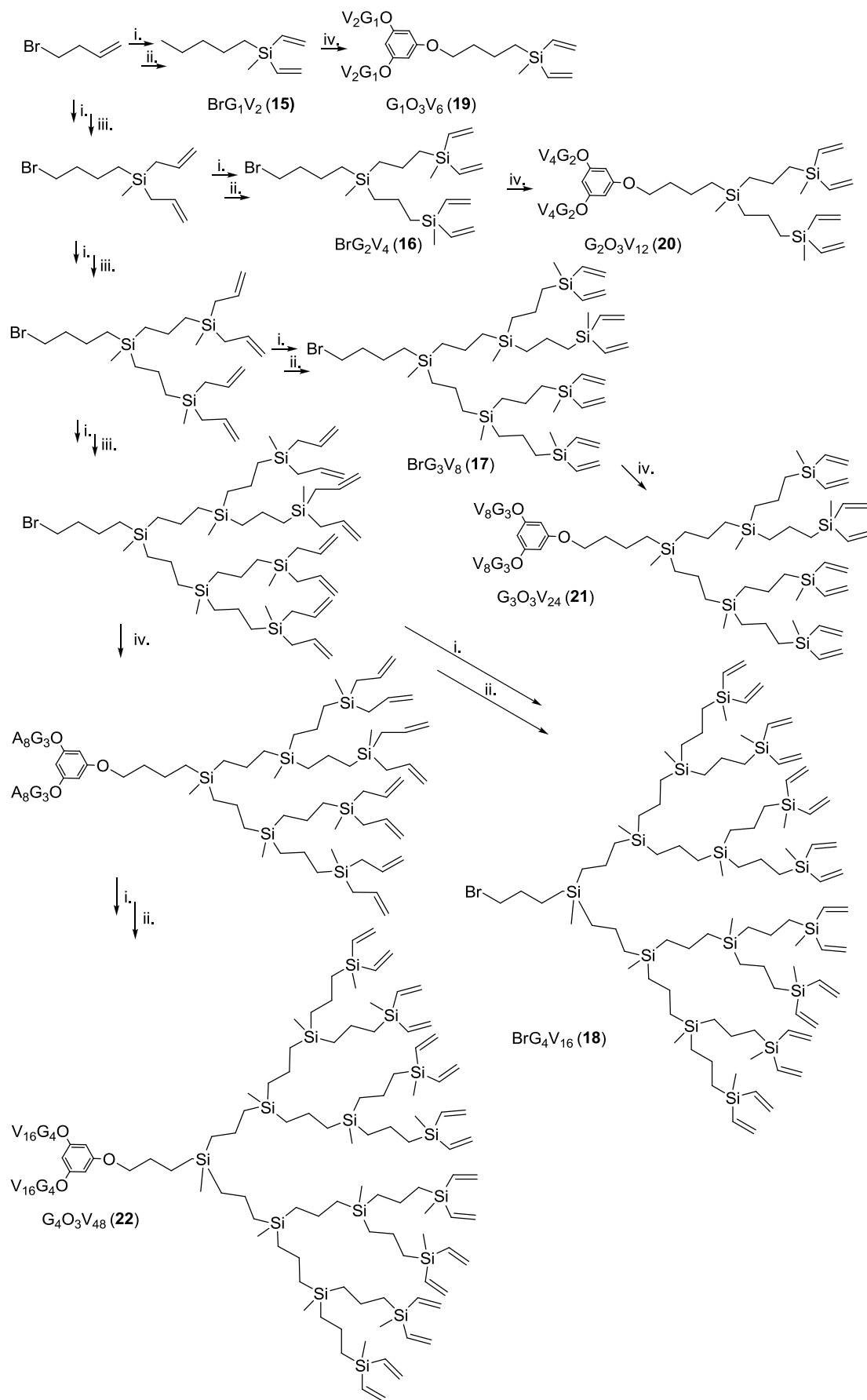
Figura 2.16 a) Espectro de masas de $G_1Si(Si-NMe_3^+)_8$ (8) b) Ampliación del pico del ión $[M-3I]^{3+}$.

2.3 Dendrímeros funcionalizados mediante hidrotiolación

Los sistemas olefínicos terminales se introducen con facilidad en los dendrímeros de tipo carbosilano, tal y como ya se ha comentado, al ser un paso necesario en la construcción del esqueleto dendrítico. Por ello, con el fin de simplificar la síntesis de los dendrímeros con grupos $-NR_2$ en la periferia, se empleó, como ruta sintética alternativa a la hidrosililación, la reacción de hidrotiolación activada por vía fotoquímica, que consiste en la adición de un tiol con un grupo $-NR_2 \cdot HCl$ a un doble enlace terminal.^{49; 52; 54}

En el presente estudio se han utilizado dos amino-tioles distintos: hidrocloreuro de cisteamina ($HSC_2H_4NH_2 \cdot HCl$) e hidrocloreuro de 2-(dimetilamino)etanotiol ($HSC_2H_4NMe_2 \cdot HCl$), que son sólidos comerciales. La forma no hidrocloreuro presenta una reactividad prácticamente nula, probablemente debido a que el fotoiniciador utilizado en esta reacción es un derivado cetona con el que pueden interaccionar los grupos amino libres eliminando su actividad. Asimismo, la directa utilización del hidrocloreuro de cisteamina permitía la obtención de dendrímeros solubles en agua para los que no se observó ninguna tendencia a la agregación.

La reactividad tiol-alqueno depende de la naturaleza tanto del compuesto olefina como del tiol.⁵⁵ En un primer paso se evaluó la reactividad de dendrímeros con grupos terminales alilo,^{36e} sintetizados previamente en nuestro grupo, comprobándose que estos dendrímeros reaccionaban con mucha dificultad y se precisaban grandes excesos de tiol para forzarla, sin llegar a completarse. Por esa razón se decidió utilizar derivados análogos con grupos vinilo terminales, que se sintetizaron tal como estaba descrito en la bibliografía, para el caso de los derivados G_nSiV_m ,⁵⁶ o de manera análoga a los correspondientes compuestos con grupos alilo terminales para los derivados con núcleo polifenólico, $G_nO_3V_m$ (Esquema 2.15).^{36e}



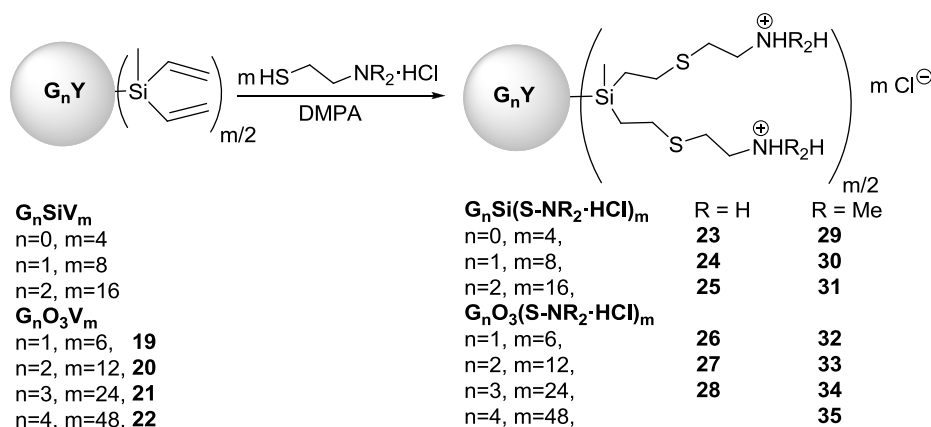
i. HSiMeCl₂, [Pt]; ii. ClMgC₂H₃; iii. BrMgC₃H₅; iv. C₆H₃O₃, K₂CO₃, 18C₆

Esquema 2.15 Síntesis de los precursores dendríticos vinilo.

2.3.1 Estudio preparativo de los dendrímeros funcionalizados por hidrotiolación

2.3.1.1 Síntesis de $G_n Y(S-NR_2 \cdot HCl)_m$ (23-35)

La reacción de hidrotiolación tiene lugar por irradiación ($\lambda = 350$ nm) de una disolución de los dendrímeros carbosilano con grupos vinilo terminales, $G_n YV_m$ (si $Y = Si$, $n = 0, 1, 2$ y $m = 4, 8, 16$, y si $Y = O_3$, $n = 1, 2, 3, 4$ y $m = 6, 12, 24, 48$, **19-22**), del derivado $HSC_2H_4NR_2 \cdot HCl$ ($R = H, Me$), en un 5% de exceso sobre el número de grupos vinilo, y de fotoiniciador 2,2-dimetoxifenilacetofenona (DMPA), en una mezcla de disolventes (MeOH:THF; 2:1). Siguiendo dicho procedimiento se obtienen los derivados $G_n Y(S-NR_2 \cdot HCl)_m$ (si $Y = Si$ y $R = H$, $n = 0, 1, 2$ y $m = 4, 8, 16$, **23-25**; si $Y = O_3$ y $R = H$, $n = 1, 2, 3$ y $m = 6, 12, 24$, **26-28**; si $Y = Si$ y $R = Me$, $n = 0, 1, 2$ y $m = 4, 8, 16$, **29-31**; y si $Y = O_3$ y $R = Me$, $n = 1, 2, 3, 4$ y $m = 6, 12, 24, 48$, **32-35**) como sólidos blancos o amarillos, higroscópicos y solubles en agua, así como en alcoholes de cadena corta y DMSO (Esquema 2.16, Figura 2.17). El subproducto de esta reacción es el disulfuro correspondiente generado por la oxidación del azufre terminal en las condiciones de reacción, el cual se elimina mediante nanofiltración. Los rendimientos fueron moderados (70-80 %), siendo menores para los derivados de menor generación, debido a la mayor dificultad de separación por nanofiltración.



Esquema 2.16 Funcionalización de dendrímeros por hidrotiolación.

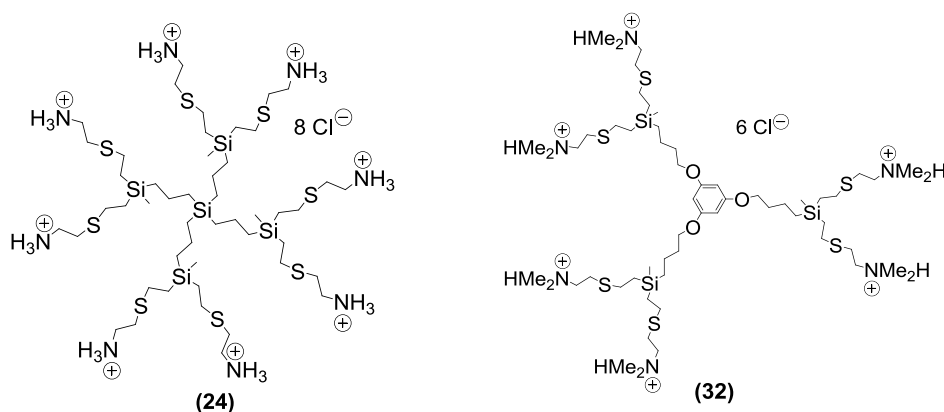


Figura 2.17 Estructura propuesta para los compuestos $G_1Si(S-NH_3^+)_m$ (**24**) y $G_1O_3(S-NMe_2\cdot HCl)_m$ (**32**).

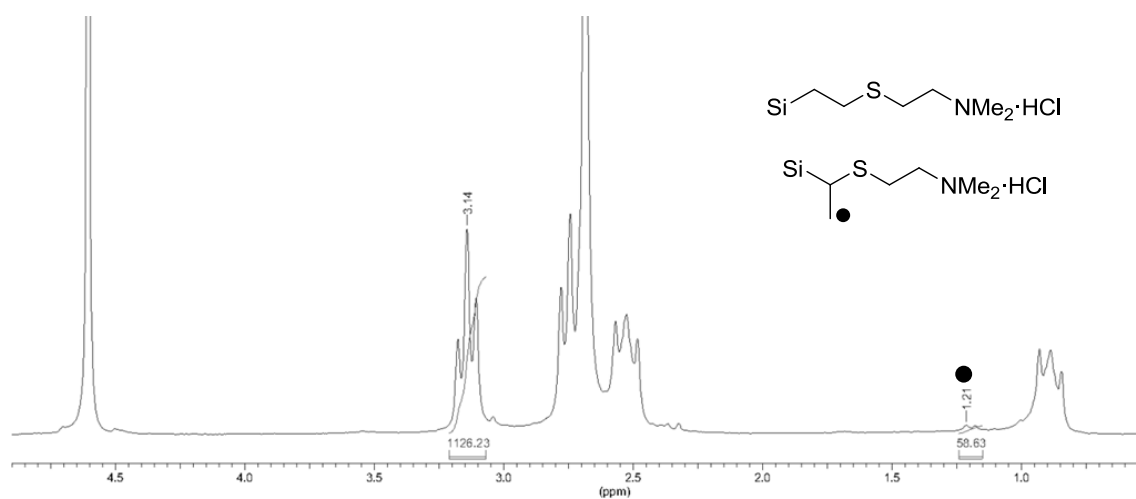
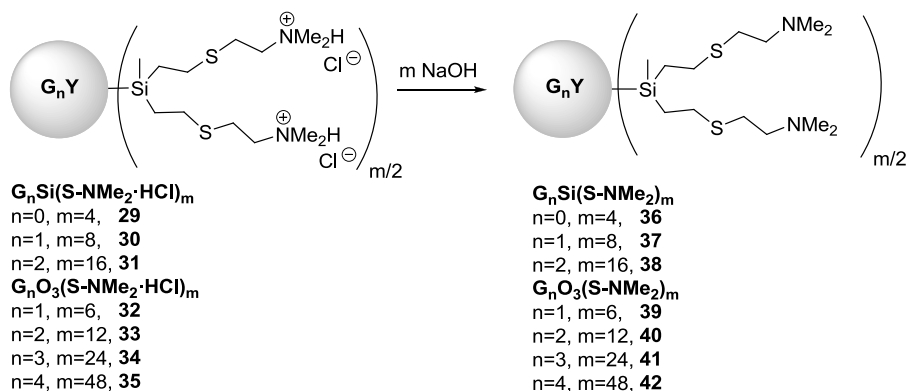


Figura 2.18 Espectro RMN- 1H (δ , D_2O) del compuesto $G_0Si(S-NMe_2\cdot HCl)_4$ (**29**) en el que se puede observar la comparación entre la señal correspondiente a la adición Markovnikov y la anti-Markovnikov.

La regioselectividad en la reacción es superior al 95 % para la adición anti-Markovnikov. Este dato se pudo comprobar por RMN- 1H para el derivado de generación 0 (**29**), para el cual se podía distinguir la resonancia del grupo metilo presente en el producto Markovnikov $SiCH(S)(CH_3)$ como un doblete a 1.2 ppm (Figura 2.18). Para generaciones superiores esta señal se enmascara con el resto de señales del dendrímoro. En cualquier caso, la presencia de un pequeño porcentaje de ramas modificadas de esta manera no altera las propiedades de los dendrímoros obtenidos, debido a que dicha modificación tan sólo tiene lugar en la periferia y las moléculas presentan el mismo número de grupos funcionales.

2.3.1.2 Síntesis de $G_nY(S-NMe_2)_m$ (36-42)

La adición de una base (NaOH o Na_2CO_3) a los derivados obtenidos por adición de 2-dimetilaminoetanotiol hidrocioruro genera los correspondientes compuestos neutros $G_nY(S-NMe_2)_m$ (si $Y = Si$, $n = 0, 1, 2$ y $m = 4, 8, 16$, **36-38**; y si $Y = O_3$, $n = 1, 2, 3, 4$ y $m = 6, 12, 24, 48$, **39-42**) que pueden ser separados del resto de componentes realizando una extracción con un disolvente orgánico y agua. Una vez secados se obtienen de forma cuantitativa como aceites muy viscosos solubles en una gran variedad de disolventes orgánicos como los disolventes clorados, éteres, DMF, DMSO y alcoholes de cadena corta, pero no en agua (Esquema 2.17, Figura 2.19).



Esquema 2.17 Obtención de los derivados amino neutros $G_nY(S-NMe_2)_m$ (36-42).

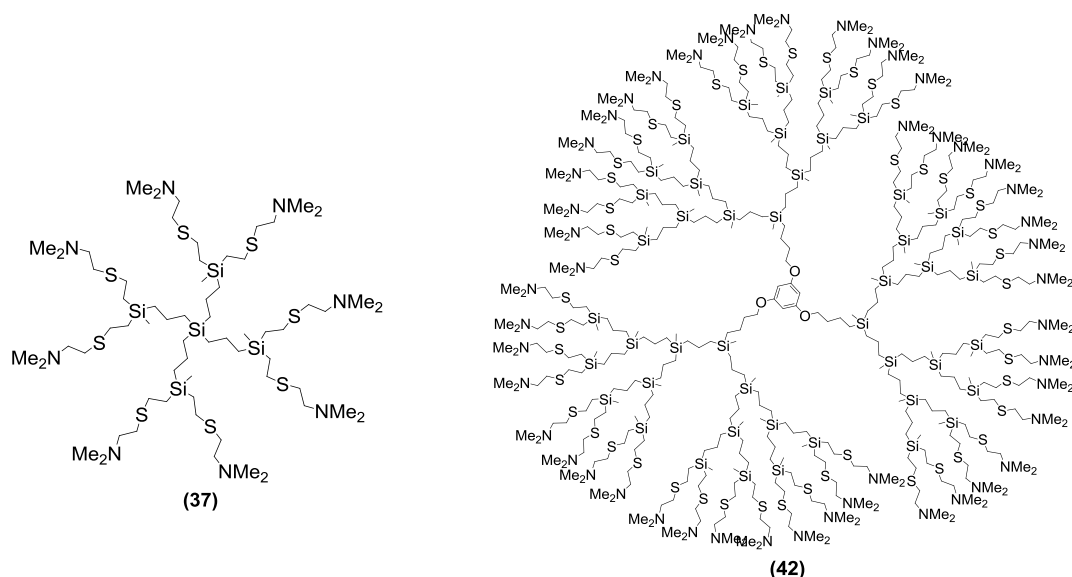
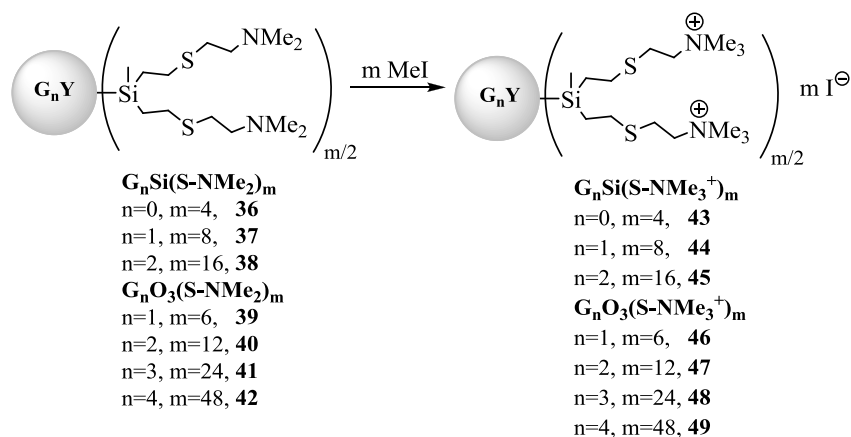


Figura 2.19 Estructura propuesta para los derivados $G_1Si(S-NMe_2)_4$ (37) y $G_4O_3(S-NMe_2)_4$ (42).

2.3.1.3 Síntesis de $G_n Y(S-NMe_3^+)_m$ (43-49)

Como en el caso de los dendrímeros $G_n Y(Si-NMe_2)_m$ (1-6), obtenidos por hidrosililación, la hidrofobicidad del esqueleto carbosilano impide la solubilización en agua de los dendrímeros $G_n Y(S-NMe_2)_m$ (36-42) y por ello se precisa la cuaternización de los dendrímeros anteriores. Se decidió llevar a cabo la cuaternización con MeI y no trabajar con los derivados catiónicos $G_n Y(S-NMe_2 \cdot HCl)_m$ (29-35), previamente descritos, ya que éstos presentan habitualmente mayores toxicidades, así como un comportamiento ácido-base que puede provocar la precipitación del esqueleto carbosilano en presencia de bases, tal y como demuestra en su reactividad comentada en el apartado 2.3.1.2.

La reacción de los derivados $G_n Y(S-NMe_2)_m$ (si $Y = Si$, $n = 0, 1, 2$ y $m = 4, 8, 16$ y si $Y = O_3$ $n = 1, 2, 3, 4$ y $m = 6, 12, 24, 48$, 36-42) con un exceso de MeI proporciona los compuestos $G_n Y(S-NMe_3^+)_m$ (si $Y = Si$, $n = 0, 1, 2$ y $m = 4, 8, 16$, 43-45; y si $Y = O_3$ $n = 1, 2, 3, 4$ y $m = 6, 12, 24, 48$, 46-49; Esquema 2.18, Figura 2.20). Estos compuestos se aíslan con rendimientos de en torno al 90 % como sólidos blancos solubles en agua y DMSO, pero no en disolventes orgánicos menos polares.



Esquema 2.18 Síntesis de dendrímeros carbosilano con grupos $-NMe_3^+$ terminales.

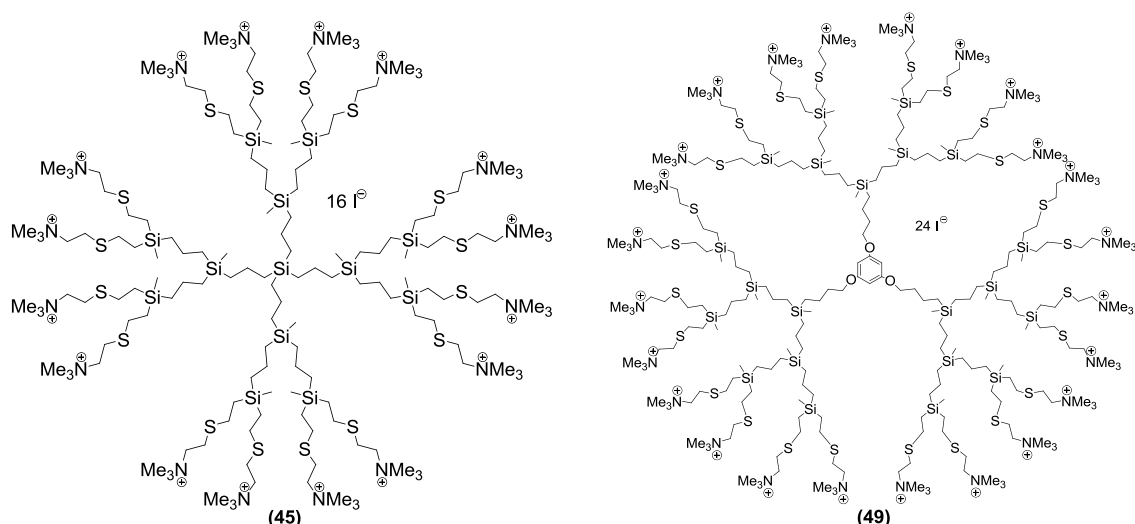


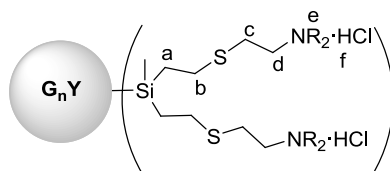
Figura 2.20 Estructura propuesta para los compuestos $G_2Si(S-NMe_3^+)_6$ (45) y $G_3O_3(S-NMe_3^+)_4$ (49).

2.3.2 Estudio estructural de los dendrímeros funcionalizados por hidrotiolación

2.3.2.1 Caracterización de $G_nY(S-NR_2 \cdot HCl)_m$ (23-35)

i. Espectroscopía de RMN

En un paso previo a la purificación y caracterización de los compuestos 23-35, la espectroscopía de RMN- 1H permitía comprobar que los grupos vinilo de los productos de partida, $G_nO_3V_m$ (19-22), habían reaccionado por la desaparición de sus resonancias a 5.7 y 6.1 ppm (δ , $CDCl_3$).



$$Y = Si, 1,3,5-C_6H_3O_3$$

Figura 2.21 Denominación de los distintos tipos de carbono e hidrógeno presentes en los dendrímeros $G_nY(S-NR_2 \cdot HCl)_m$ (23-35; $R = H$, donde $e = f$, o Me).

En los compuestos $G_nY(S-NR_2 \cdot HCl)_m$ (23-35) la utilización de experimentos de correlación TOCSY y HSQC{ 1H - ^{13}C } permite corroborar la formación de la nueva cadena externa $SiCH_2CH_2S$. El experimento TOCSY

muestra dos resonancias a δ 0.9 y 2.6 para los metilenos **a** ($\text{SiCH}_2\text{CH}_2\text{S}$) y **b** ($\text{SiCH}_2\text{CH}_2\text{S}$), provenientes de la transformación del doble enlace en los derivados vinilo precursores $G_n\text{YV}_m$ en una cadena alquílica. En cuanto al experimento HSQC $\{^1\text{H}-^{13}\text{C}\}$, éste permite relacionar estos dos tipos de protones con sus respectivos carbonos que presentan resonancias en torno a δ 13 (**a**, $\text{SiCH}_2\text{CH}_2\text{S}$) y 26 (**b**, $\text{SiCH}_2\text{CH}_2\text{S}$, Figura 2.22, Tabla 2.6).

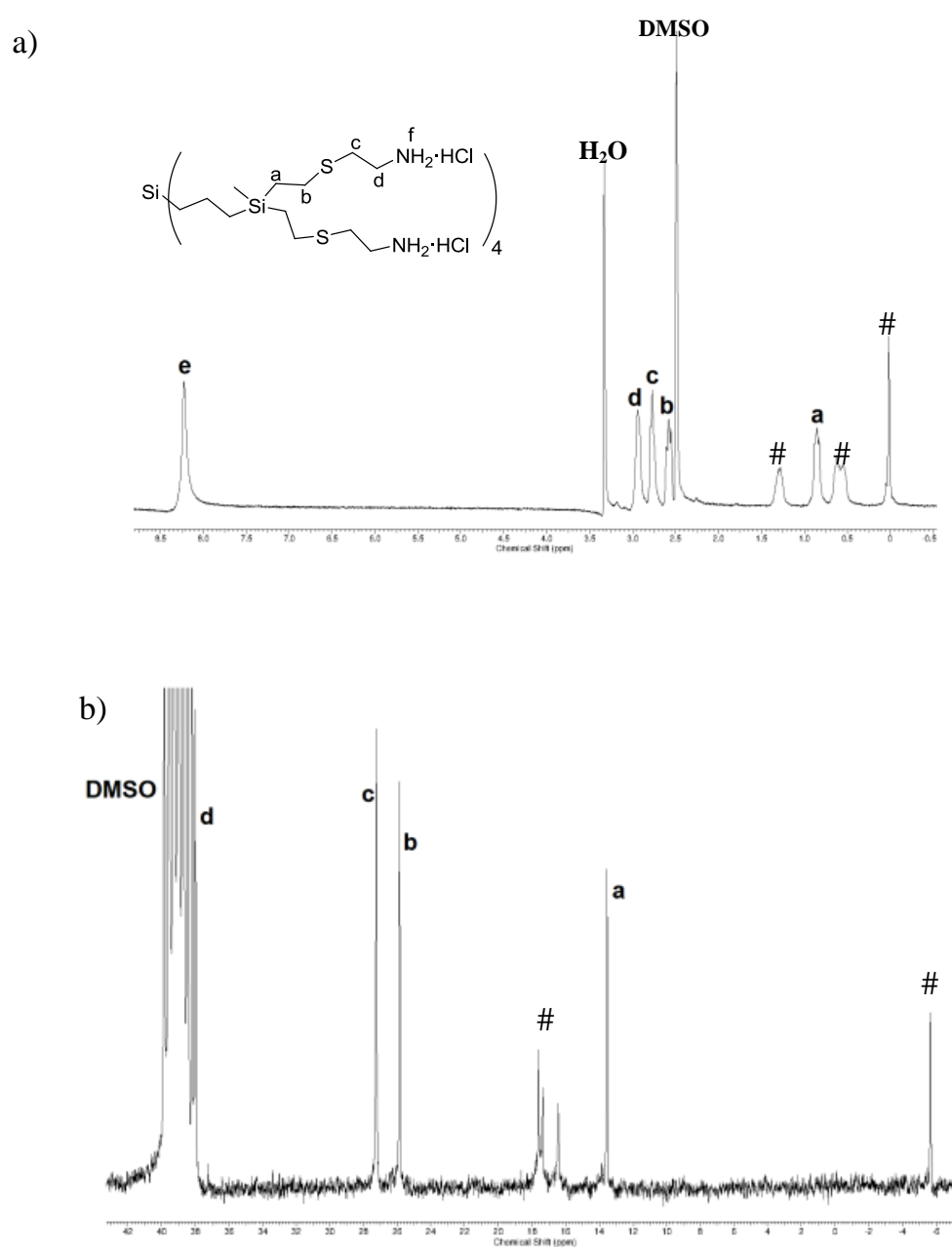


Figura 2.22 Espectros a) RMN- ^1H y b) $^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ de $G_1\text{Si}(\text{S}-\text{NH}_3^+)_8$ (**24**, δ , DMSO), # = CBS.

La cadena externa $\text{SCH}_2\text{CH}_2\text{N}^+$ ($-\text{SCH}_2\text{CH}_2\text{NR}_2\cdot\text{HCl}$)₂ (R = H, Me), presenta unos desplazamientos en RMN-¹H en torno 2.8 y 2.9 ppm para los derivados $G_n\text{Y}(\text{S-NH}_2\cdot\text{HCl})_m$ (**23-28**) y en torno a 2.9 y 3.2 ppm para los derivados $G_n\text{Y}(\text{S-NMe}_2\cdot\text{HCl})_m$ (**29-35**).

	RMN- ¹ H		RMN- ¹³ C{ ¹ H}	
	n=0 m=4 (23)	n=0 m=4 (29)	n=0 m=4 (23)	n=0 m=4 (29)
SiCH ₂ CH ₂ S a	0.85	0.98	13.5	11.9
SiCH ₂ CH ₂ S b	2.58	2.61	25.9	25.6
SCH ₂ CH ₂ NR ₂ ·HCl c	2.77	2.86	27.2	24.3
SCH ₂ CH ₂ NR ₂ ·HCl d	2.94	3.16	38.0	55.4
SCH ₂ CH ₂ NMe ₂ ·HCl e	-	2.70	-	41.6
SCH ₂ CH ₂ NR ₂ ·HCl f	8.10	10.68	-	-

Tabla 2.6 Datos de RMN-¹H y -¹³C{¹H} (δ, DMSO) correspondientes a los compuestos $G_0\text{Si}(\text{S-NH}_3^+)_4$ (**23**; R = H) y $G_0\text{Si}(\text{S-NMe}_2\cdot\text{HCl})_4$ (**29**; R = Me).

Si bien las señales asignadas a la cadena externa del dendrímero no se pueden diferenciar de las correspondientes a los derivados disulfuro al realizar los espectros en DMSO-d₆, sí se pueden diferenciar en D₂O tal y como se muestra en la Tabla 2.7. Esta diferencia de desplazamiento se puede utilizar para comprobar la pureza de los derivados una vez concluido el proceso de purificación por nanofiltración.

	R = H		R = Me	
	Disulfuro	23-28	Disulfuro	29-35
-SCH ₂ CH ₂ NR ₂ ·HCl	2.9	2.8	2.6	2.9
-SCH ₂ CH ₂ NR ₂ ·HCl	3.3	2.9	3.0	3.2

Tabla 2.7 Datos de RMN-¹H correspondientes a la cadena externa de los dendrímeros $G_n\text{Y}(\text{S-NR}_2\text{HCl})_m$ (**23-35**; δ, D₂O).

En cuanto a los espectros de HMBC{ ^1H - ^{29}Si }, se observa que la señal correspondiente al átomo de Si más externo se ha desplazado desde -14 en los derivados vinilo a 2.4 ppm. Por último, los espectros de HMBC{ ^1H - ^{15}N } presentan una única señal aproximadamente a -342 (**23-28**) ó -338 ppm (**29-35**), que es coherente con la presencia de grupos amonio $-\text{NR}_2\cdot\text{HCl}$.

ii. Espectrometría de masas

En los espectros de masas ESI, se observan iones múltiples cargados correspondientes a las estructuras propuestas donde se han perdido x moléculas de HCl e y aniones Cl^- . Así se pueden encontrar, entre otros, los iones correspondientes de **24** con $m/z = 401.20$ ($[\text{G}_1\text{Si}(\text{S}-\text{NH}_3)_3(\text{S}-\text{NH}_2)_5]^{3+}$) y 601.30 ($[\text{G}_1\text{Si}(\text{S}-\text{NH}_3)_6(\text{S}-\text{NH}_2)_2]^{6+}$) uma, de **25** con $m/z = 543.71$ ($[\text{G}_2\text{Si}(\text{S}-\text{NH}_2\text{H})_5(\text{S}-\text{NH}_2)_{11}]^{5+}$) y 679.38 ($[\text{G}_2\text{Si}(\text{S}-\text{NH}_2\text{H})_4(\text{S}-\text{NH}_2)_{12}]^{4+}$) uma y de **29** con $m/z = 297.10$ ($[\text{G}_0\text{Si}(\text{S}-\text{NMe}_2\text{HCl})(\text{S}-\text{NMe}_2\text{H})_2(\text{S}-\text{NMe}_2)]^{2+}$) uma.

2.3.2.2 Caracterización de $\text{G}_n\text{Y}(\text{S}-\text{NMe}_2)_m$ (**36-42**)

i. Espectroscopía de RMN

Los datos de RMN de ^1H y ^{13}C (δ , CDCl_3), de estos nuevos compuestos se discuten a continuación.

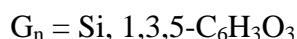
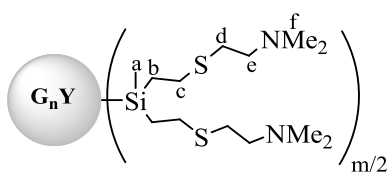


Figura 2.23 Denominación de los distintos tipos de carbono e hidrógeno presentes en los dendrímeros $\text{G}_n\text{Y}(\text{S}-\text{NMe}_2)_m$ (**36-42**).

La desprotonación de los grupos amonio terminales produce un desplazamiento de las señales cercanas a los átomos de nitrógeno a menores frecuencias debido al menor efecto inductivo del nitrógeno sin carga positiva. Así, en la RMN- ^1H se observa un desplazamiento notable para los grupos

directamente unidos al átomo de nitrógeno CH_2N (**e**) y NMe_2 (**f**) que se desplazan desde 3.2 y 2.7 a 2.4 y 2.2 ppm respectivamente (Tabla 2.8, Figura 2.11). Un desplazamiento notable ocurre también en el espectro de HMBC $\{^1H-^{15}N\}$ para el grupo $-NMe_2$, ya que dicha resonancia se desplaza hasta aproximadamente -352 ppm en los derivados neutros.

	n=0 m=4 (36)	n=1 m=8 (37)	n=2 m=16 (38)	n=1 m=6 (39)	n=2 m=12 (40)	n=3 m=24 (41)	n=4 m=48 (42)
$MeSiCH_2CH_2S$	-	-0.09	-0.01	-0.01	-0.01	0.00	0.00
$SiCH_2CH_2S$ b	0.80	0.80	0.87	0.90	0.88	0.88	0.88
$SCH_2CH_2NMe_2$ f	2.21	2.14	2.22	2.25	2.23	2.23	2.24
SCH_2CH_2N e	2.40	2.40	2.47	2.47	2.48	2.48	2.51
$SiCH_2CH_2S$ c	2.43	2.43	2.53	2.52	2.52	2.54	2.56
SCH_2CH_2N d	2.45	2.45	2.59	2.59	2.57	2.60	2.61

Tabla 2.8 Datos de RMN- 1H correspondientes a los compuestos $G_nY(S-NMe_2)_m$ (**36-42**; δ , $CDCl_3$).

En cuanto al espectro de RMN- ^{13}C se observa el desplazamiento de los carbonos CH_2N (**e**) y NMe_2 (**f**) a 59 y 45 ppm respectivamente (Tabla 2.9, Figura 2.24).

	n=0 m=4 (36)	n=1 m=8 (37)	n=2 m=16 (38)	n=1 m=6 (39)	n=2 m=12 (40)	n=3 m=24 (41)	n=4 m=48 (42)
$MeSiCH_2CH_2S$ a	-	-5.4	-5.2	-5.4	-5.1	-5.2	-5.0
$SiCH_2CH_2S$ b	13.0	14.4	14.6	14.5	14.6	14.6	14.6
$SiCH_2CH_2S$ c	27.3	27.5	27.7	27.6	27.7	27.7	27.7
SCH_2CH_2N d	29.9	29.6	29.8	29.8	29.6	29.8	29.8
$SCH_2CH_2NMe_2$ f	45.3	45.2	45.4	45.4	45.2	45.4	45.4
SCH_2CH_2N e	59.1	59.1	59.3	59.2	59.1	59.3	59.2

Tabla 2.9 Datos de RMN- $^{13}C\{^1H\}$ correspondientes a los compuestos $G_nY(S-NMe_2)_m$ (**36-42**; δ , $CDCl_3$).

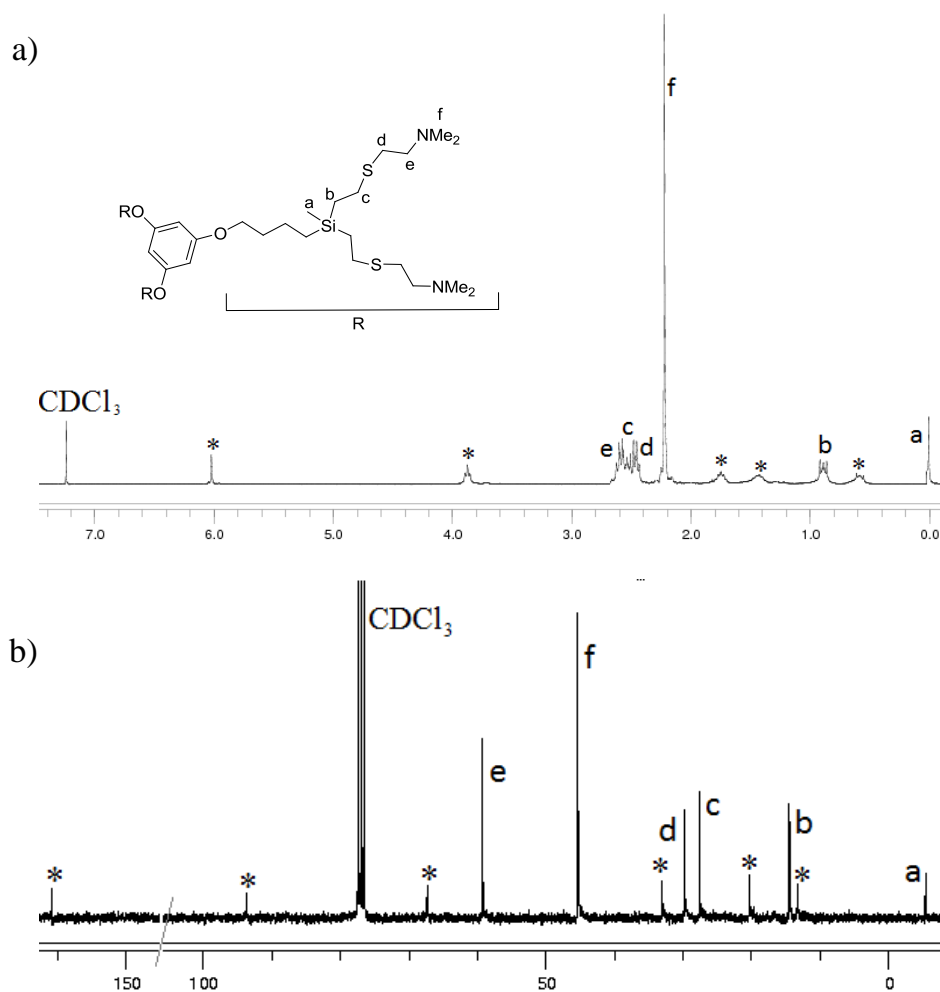


Figura 2.24 Espectros a) $RMN\text{-}^1H$ y b) $\text{-}^{13}C\{^1H\}$ de $G_1O_3(S\text{-}NMe_2)_6$ (**39**; δ , $CDCl_3$), * = señales características del núcleo polifenólico.

ii. Espectrometría de masas

En los espectros de masas MALDI-TOF, se observan los picos correspondientes a los iones $[M+H]^+$ únicamente para los derivados **36** ($m/z = 557.32$) y **39** ($m/z = 1213.70$).

2.3.2.3 Caracterización de $G_n Y(S-NMe_3^+)_m$ (43-49)

i. Espectroscopía de RMN

Los datos de RMN- 1H y ^{13}C (δ , DMSO), de estos nuevos compuestos se discuten a continuación.

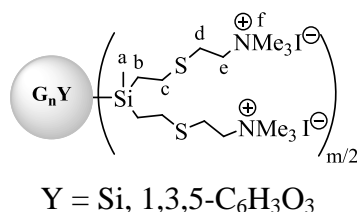


Figura 2.25 Denominación de los distintos tipos de carbono e hidrógeno presentes en los dendrímeros $G_n Y(S-NMe_3^+)_m$ (43-49).

La reacción de cuaternización afecta fundamentalmente, como en los dendrímeros obtenidos por hidrosililación $G_n Y(Si-NMe_3^+)_m$ (7-12), al desplazamiento químico de las señales correspondientes a los grupos adyacentes al átomo de nitrógeno $CH_2NMe_3^+$, que se desplaza a mayores frecuencias. De esta manera, los grupos $CH_2NMe_3^+$ (**f**) y $CH_2NMe_3^+$ (**e**) se observan ahora a 3.1 y 3.6 ppm respectivamente (Tabla 2.10, Figura 2.26). También la cuaternización de los nitrógenos periféricos se puede comprobar por el incremento de la intensidad de la señal **f** en los derivados cuaternizados ($-NMe_3^+$) con respecto a los derivados neutros ($-NMe_2$). El espectro de RMN- ^{13}C también revela dicha adición ya que, como en protón, las señales de los carbonos adyacentes a nitrógeno, **e** y **f**, se desplazan a mayores frecuencias, 64 y 52 ppm respectivamente.

Además, es importante destacar que en el espectro de HMBC $\{^1H-^{15}N\}$ la señal de nitrógeno se desplaza ahora a frecuencias similares a los valores encontrados para los derivados **29-35**, $G_n Y(Si-NMe_2 \cdot HCl)_m$, debido a la carga neta positiva sobre los nitrógenos, de -352 a -330 ppm aproximadamente.

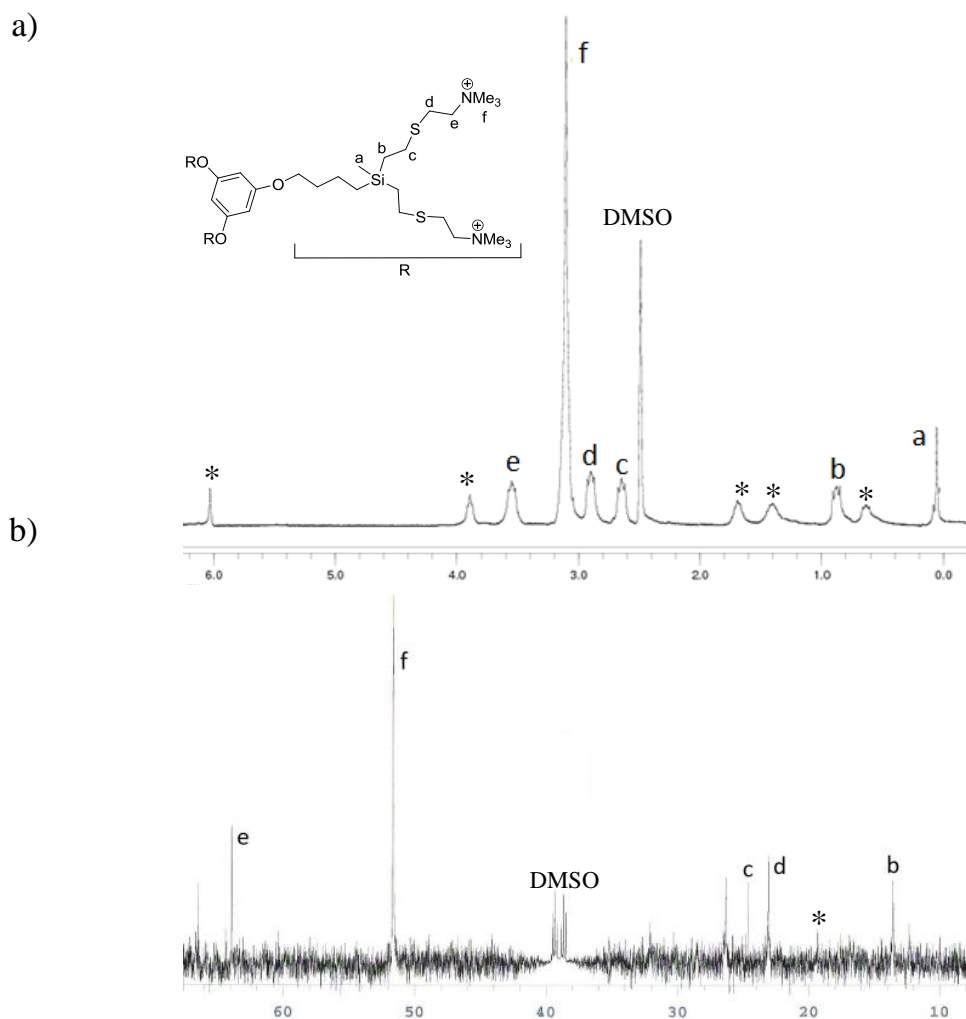


Figura 2.26 Espectros a) $RMN-^1H$ y b) $-^{13}C\{^1H\}$ (abajo) del compuesto $G_1O_3(S-NMe_3^+)_6$ (**46**; δ , DMSO), * = señales características del núcleo dendrítico.

	n=0 m=4 (43)	n=1 m=8 (44)	n=2 m=16 (45)	n=1 m=6 (46)	n=2 m=12 (47)	n=3 m=24 (48)	n=4 m=48 (49)
$MeSiCH_2CH_2S$ a	-	0.05	0.05	0.05	0.08	0.05	0.05
$SiCH_2CH_2S$ b	1.00	0.86	0.85	0.88	0.90	0.86	0.85
$SiCH_2CH_2S$ c	2.68	2.65	2.65	2.64	2.67	2.65	2.66
$SCH_2CH_2N^+$ d	2.93	2.91	2.91	2.89	2.94	2.91	2.94
$SCH_2CH_2NMe_3^+$ f	3.25	3.13	3.15	3.09	3.15	3.14	3.17
$SCH_2CH_2N^+$ e	3.57	3.59	3.60	3.53	3.60	3.59	3.62

Tabla 2.10 Datos de $RMN-^1H$ correspondientes a los compuestos $G_nY(S-NMe_3^+)_m$ (**43-49**; δ , DMSO).

	n=0 m=4 (43)	n=1 m=8 (44)	n=2 m=16 (45)	n=1 m=6 (46)	n=2 m=12 (47)	n=3 m=24 (48)	n=4 m=48 (49)
MeSiCH ₂ CH ₂ S a	-	-5.5	-5.5	-6.4	-5.6	-5.5	-6.0
SiCH ₂ CH ₂ S b	12.3	13.7	13.7	12.9	13.6	13.9	13.0
SCH ₂ CH ₂ N ⁺ d	23.2	23.2	23.2	22.3	23.1	23.3	22.5
SiCH ₂ CH ₂ S c	26.2	26.5	26.5	25.5	26.4	26.5	25.8
-NMe ₃ ⁺ f	51.8	51.8	51.8	51.0	51.7	51.8	51.1
SCH ₂ CH ₂ N ⁺ e	64.0	64.0	64.0	63.0	63.9	64.0	63.4

Tabla 2.11 Datos de RMN-¹³C{¹H} correspondientes a los compuestos G_nY(S-NMe₃⁺)_m (43-49; δ, DMSO).

ii. Espectrometría de masas

Las muestras fueron analizadas por ESI observándose los iones multicargados correspondientes a diferentes pérdidas de yoduro. Así, se pueden encontrar los iones [M-3I]³⁺ (m/z = 248, **43**), [M-4I]⁴⁺ (m/z = 1231.35, **45**), [M-3I]³⁺ (m/z = 561.18, **46**), [M-3I]³⁺ (m/z = 1279.40, **47**) y [M-6I]⁶⁺ (m/z = 1295.48, **48**).

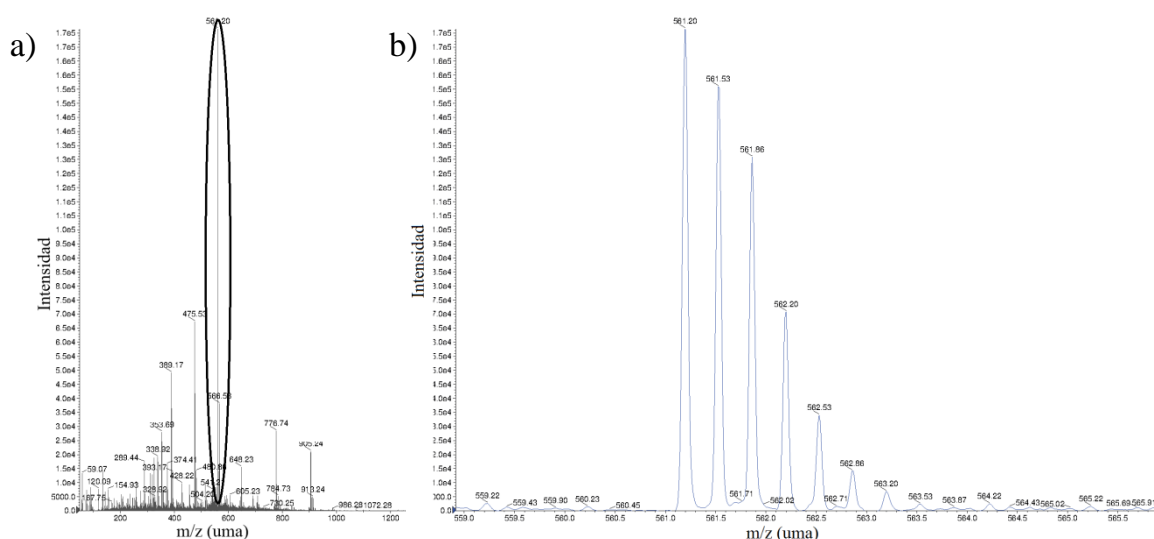
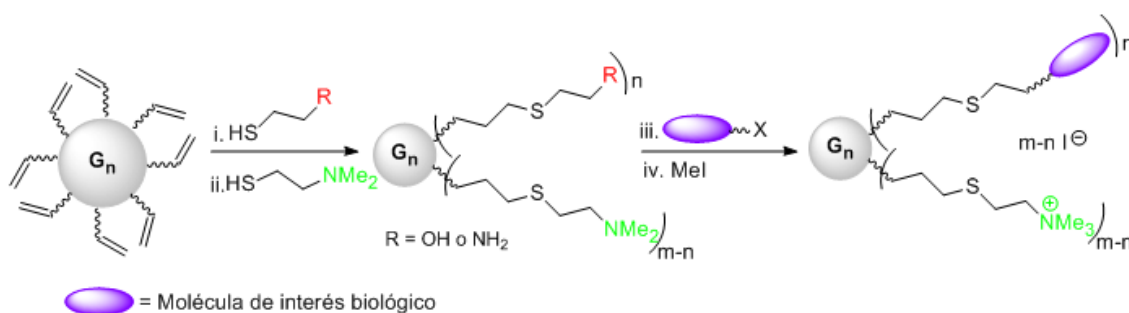


Figura 2.27 a) Espectro de masas de G₁O₃(S-NMe₃⁺)₆ (**46**) b) Ampliación del pico del ión [M-3I]³⁺.

2.4 Heterofuncionalización de dendrímeros

Como se ha comentado en la introducción de este capítulo, la adición tioleno es una reacción muy versátil, compatible con gran cantidad de grupos funcionales, que permite la introducción en la superficie dendrítica de distintas funcionalidades a través de los derivados tiol correspondientes. Aprovechando esta versatilidad, se puede lograr la introducción de dos o más grupos funcionales distintos de manera estadística en un mismo dendrímero decorado con grupos alqueno en la periferia. Posteriormente, el comportamiento diferenciado de los grupos funcionales introducidos permitirá, por ejemplo, la unión de moléculas de interés biomédico, conservando además el carácter iónico del dendrímero.

Tanto los grupos amino primarios como los grupos hidroxilo son funciones reactivas y con una reactividad claramente diferenciada de los grupos amino terciarios presentes en la molécula. Así la presencia de grupos $-\text{NH}_2$ permitirá la introducción de moléculas de interés biomédico mediante la formación de enlaces amido, urea o tiourea, mientras que el grupo $-\text{OH}$ lo permitirá a través de la formación de enlaces éster o carbamato. Por ello en este trabajo se ha realizado la síntesis de dendrímeros esféricos heterofuncionalizados en la periferia con grupos amino terciarios ($-\text{NMe}_2$) y una función amino primario ($-\text{NH}_2$) o hidroxilo ($-\text{OH}$, Esquema 2.19).



Esquema 2.19 Heterofuncionalización estadística de dendrímeros.

2.4.1 Estudio preparativo de los dendrímeros que contienen fluoresceína

El isotiocianato de fluoresceína (FITC) es un derivado comercial del fluoróforo fluoresceína ampliamente utilizado para obtener macromoléculas con propiedades fluorescentes. Este derivado comercial contiene una función isotiocianato que reacciona sin generar subproductos con grupos $-NH_2$ formando un enlace tiourea, altamente estable en disoluciones acuosas, por lo que utilizando dicho derivado podríamos obtener productos heterofuncionalizados con propiedades fluorescentes. La longitud de onda de excitación es 485 nm (azul) y la de emisión 519 nm (verde), lo que implica que ambas transiciones se encuentran en el visible. Además muestra una buena biocompatibilidad por lo que puede resultar útil para realizar estudios de biodistribución *in vivo* de los derivados de tipo dendrítico o hacer estudios de internalización celular de los mismos.⁵⁷

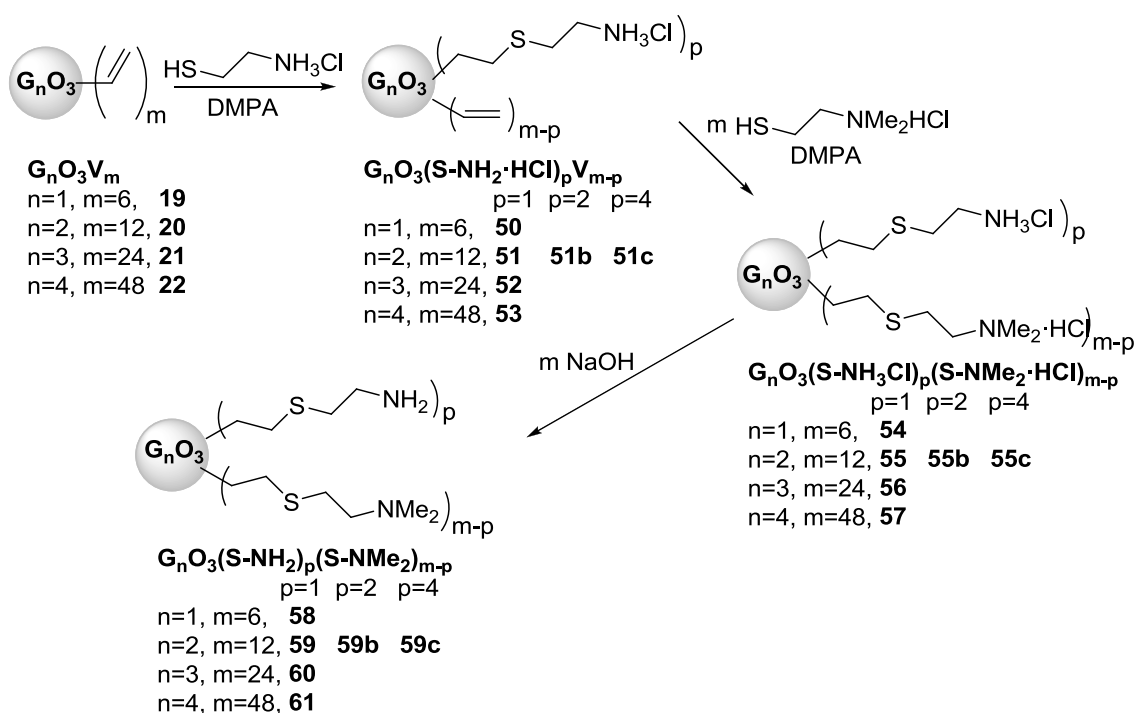
2.4.1.1 Síntesis de $G_nO_3(S-NH_2)_p(S-NMe_2)_{m-p}$ (58-61)

Se seleccionaron los dendrímeros con núcleo polifenólico para llevar a cabo este estudio por las propiedades como nanotransportadores de material nucleico que habían demostrado los dendrímeros catiónicos homofuncionalizados $G_nO_3(S-NMe_3^+)_m$ (46-49, Capítulo 3). Partiendo de los precursores $G_nO_3V_m$ ($n = 1, 2, 3, 4$ y $m = 6, 12, 24, 48$, 19-22) se realiza la adición, en primer lugar, del derivado tiol hidrocloreto de cisteamina ($HSC_2H_4NH_2 \cdot HCl$) en la estequiometría seleccionada (1, 2 ó 4 equivalentes) para generar la sustitución asimétrica en el dendrímero. La reacción se deja durante media hora en presencia de luz ultravioleta (365 nm) y en presencia de fotoiniciador (DMPA, 10 % con respecto al número de grupos vinilo a sustituir). La total adición del primer derivado se comprobó mediante espectroscopía de RMN al realizarse los espectros de protón y carbono de una alícuota del bruto de reacción confirmando así la formación de los intermedios $G_nO_3(S-NH_3Cl)_pV_{m-p}$ (50-53) en las proporciones indicadas.

A continuación, sin tratar la reacción anterior se añade el segundo derivado tiol, en nuestro caso hidrocloreto de 2-(dimetilamino)etanotiol ($\text{HSC}_2\text{H}_4\text{NMe}_2\cdot\text{HCl}$), para completar la total sustitución de los grupos vinilo, irradiando la mezcla de reacción durante 3 h más en presencia de la cantidad de fotoiniciador necesaria DMPA (10 % con respecto al número de grupos vinilo a sustituir).

Siguiendo este procedimiento se obtuvieron los dendrímeros catiónicos $\text{G}_n\text{O}_3(\text{S-NH}_3^+)_p(\text{S-NMe}_2\text{H}^+)_{m-p}$ ($n=1, 2, 3, 4, p=1$ y $m=6, 12, 24, 48$ y $n=2, p=2, 4$ y $m=12$, **54-57**) con rendimientos de en torno al 70 % como sólidos amarillentos solubles en agua, alcoholes y DMSO (Esquema 2.20, Figura 2.28).

Tras la neutralización en medio básico de los compuestos **54-57** se obtienen, con rendimientos cuantitativos, los correspondientes derivados con grupos amino periféricos $\text{G}_n\text{O}_3(\text{S-NH}_2)_p(\text{S-NMe}_2)_{m-p}$ ($n=1, 2, 3, 4, p=1$ y $m=6, 12, 24, 48$; $n=2, m=12$ y $p=2, 4$, **58-61**) como aceites solubles en disolventes halogenados y orgánicos de uso común, pero no en agua (Esquema 2.20, Figura 2.28).



Esquema 2.20 Síntesis de dendrímeros estadísticamente sustituidos con distintos grupos amino terminales.

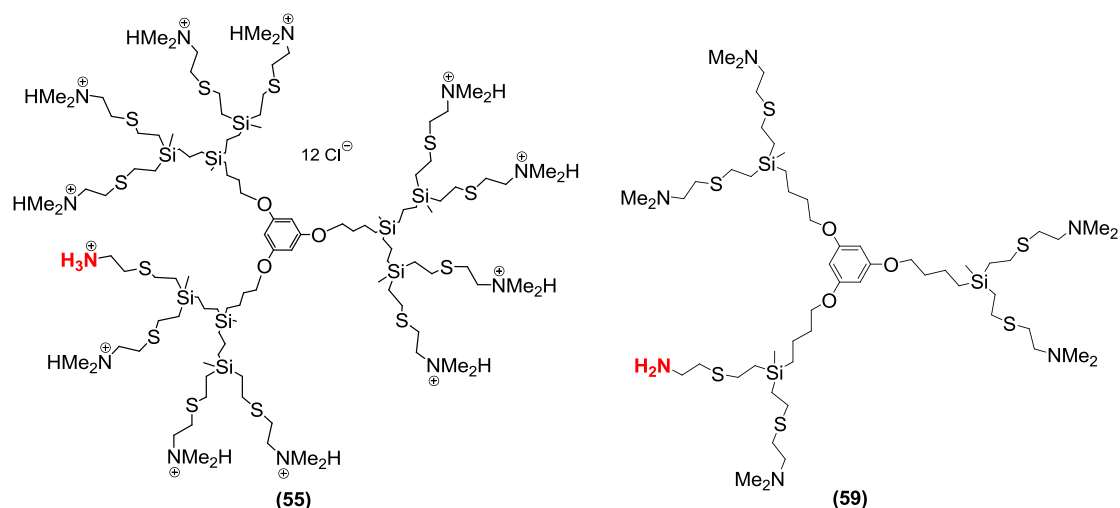
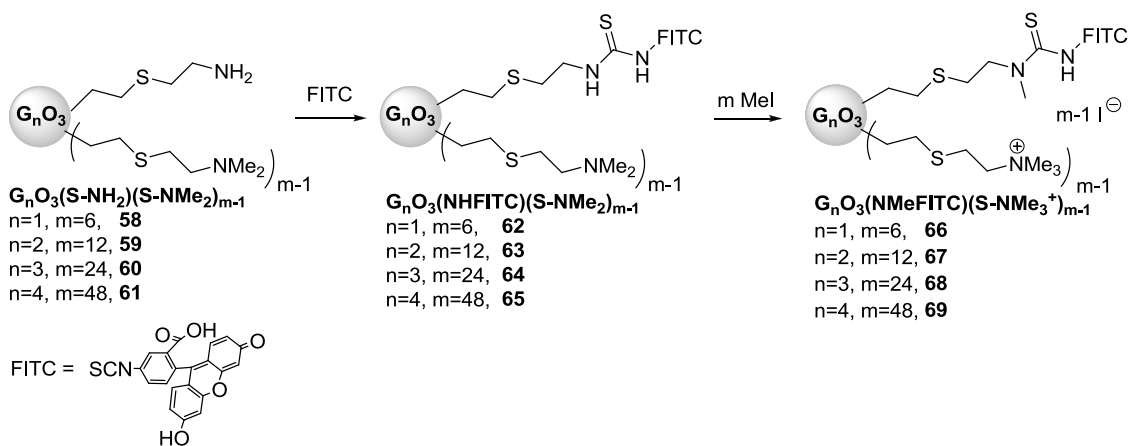


Figura 2.28 Estructura de los derivados $G_2O_3(S-NH_3^+)(S-NMe_2 \cdot HCl)_5$ (55) y $G_1O_3(S-NH_2)(S-NMe_2)_5$ 59.

2.4.1.2 Síntesis de $G_nO_3(NMeFITC)(S-NMe_3^+)_{m-1}$ (66-69)

Con el fin de obtener dendrímeros heterofuncionalizados con una molécula de fluoresceína y grupos amonio periféricos, se hicieron reaccionar los derivados $G_nO_3(S-NH_2)(S-NMe_2)_{m-1}$ (58-61) con isotiocianato de fluoresceína (Esquema 2.21). Los compuestos con un único grupo $-NH_2$ se eligieron teniendo en cuenta que la incorporación de un único fluoróforo en la periferia dendrítica sería suficiente para las aplicaciones aquí estudiadas, además de que permitiría comparar las propiedades de estos compuestos con las de los análogos homofuncionalizados. La reacción completa de los grupos amino $-NH_2$ se puede comprobar a través de la realización de un test de Kaiser, sensible a la presencia de grupos $-NH_2$.⁵⁸ Tras la evaporación de los componentes volátiles se eliminaron los residuos no solubles en THF mediante filtrado. A continuación, sin aislar los derivados $G_nO_3(NHFITC)(S-NMe_2)_{m-1}$ (62-65), se continuó con la alquilación de los grupos amino terciarios con yoduro de metilo, obteniéndose los correspondientes derivados catiónicos $G_nO_3(NMeFITC)(S-NMe_3^+)_{m-1}$ (66-69) con rendimientos superiores al 80 %, tras lavar el bruto de reacción con etanol y nanofiltrar. Estos compuestos son sólidos de color amarillo o anaranjado solubles en agua y DMSO, pero no en compuestos menos polares o alcoholes (Figura 2.29).



Esquema 2.21 Síntesis de los derivados marcados con fluoresceína $G_nO_3(NMeFITC)(S-NMe_3^+)_{m-1}$ (**62-69**).

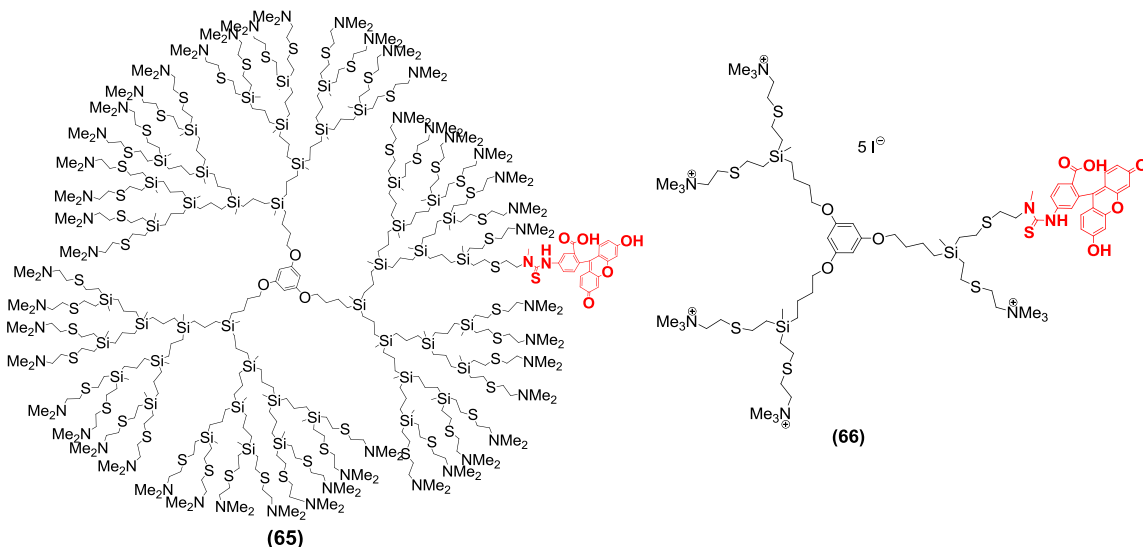


Figura 2.29 Estructura propuesta para el intermedio $G_4O_3(NHFITC)(S-NMe_2)_{47}$ (**65**) y el compuesto $G_1O_3(NMeFITC)(S-NMe_3^+)_{m-1}$ (**66**).

La reacción anterior se lleva a cabo empleando exceso de MeI con el fin de asegurar la cuaternización completa. La presencia de este ligero exceso conlleva a su vez la sustitución del átomo de hidrógeno del nitrógeno interno del sistema tiourea (Esquema 2.21). Probablemente, la metilación del nitrógeno interno del enlace tiourea se vea favorecida con respecto al nitrógeno externo al encontrarse los electrones de este último conjugados con los anillos aromáticos de la fluoresceína, lo cual compromete el par electrónico sobre el nitrógeno haciendo que sea menos nucleófilo que el nitrógeno interno. Esta metilación no afecta a las propiedades fluorescentes del fluoróforo.

2.4.2 Estudio estructural de los dendrímeros que contienen fluoresceína

2.4.2.1 Caracterización de $G_nO_3(S-NH_2)_p(S-NMe_2)_{m-p}$ (58-61)

Espectroscopía de RMN

El proceso sintético llevado a cabo fue corroborado por RMN. En todos los compuestos descritos en este apartado vamos a fijarnos en las cadenas introducidas con grupos amino o amonio primarios, puesto que el resto de señales serán idénticas a las de los compuestos con grupos amino terciarios/amonio cuaternarios en la periferia anteriormente descritos.

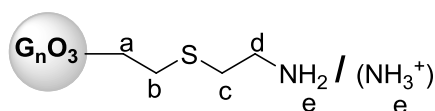


Figura 2.30 Denominación de los distintos tipos de C e H de las cadenas asimétricamente sustituidas de los derivados 50-61.

a) $G_nO_3(S-NH_3^+)V_{m-1}$ (50-53)

El primer paso sintético fue la adición de un equivalente de hidrocloreuro de cisteamina a los dendrímeros $G_nO_3V_m$ (**19-22**). En esta reacción se observa la aparición de las señales correspondientes a la nueva cadena introducida – $SiCH_2CH_2S-$ (**a, b**), tanto en el espectro de RMN- 1H (0.9 y 2.6 ppm) como en el de RMN- ^{13}C (14 y 27 ppm aproximadamente) para los derivados de primera y segunda generación (Figura 2.31). En estas generaciones, el valor de la integral permite comprobar la proporción del derivado tiol mediante la comparación de la integral de las señales de la cadena nueva formada (**a, b**) con la de las señales originales del dendrímtero. Si bien la proporción de tiol incorporado variaba para cada preparación, se observaba en todos los casos que su valor era muy próximo al esperado según la estequiometría utilizada. Para el dendrímtero de tercera generación, la baja intensidad relativa de las señales nuevas respecto al resto de señales impide su visualización en el espectro de RMN- ^{13}C , mientras que para el

dendrímtero de cuarta generación las nuevas resonancias no pudieron observarse ni en el espectro de RMN-¹H ni en el de RMN-¹³C. Sin embargo, en estos dendrímeros de generaciones mayores se da por supuesta la funcionalización ya que las condiciones de reacción son las mismas que en los demás compuestos, y además el número de grupos vinilo es mayor lo que facilitaría la reacción.

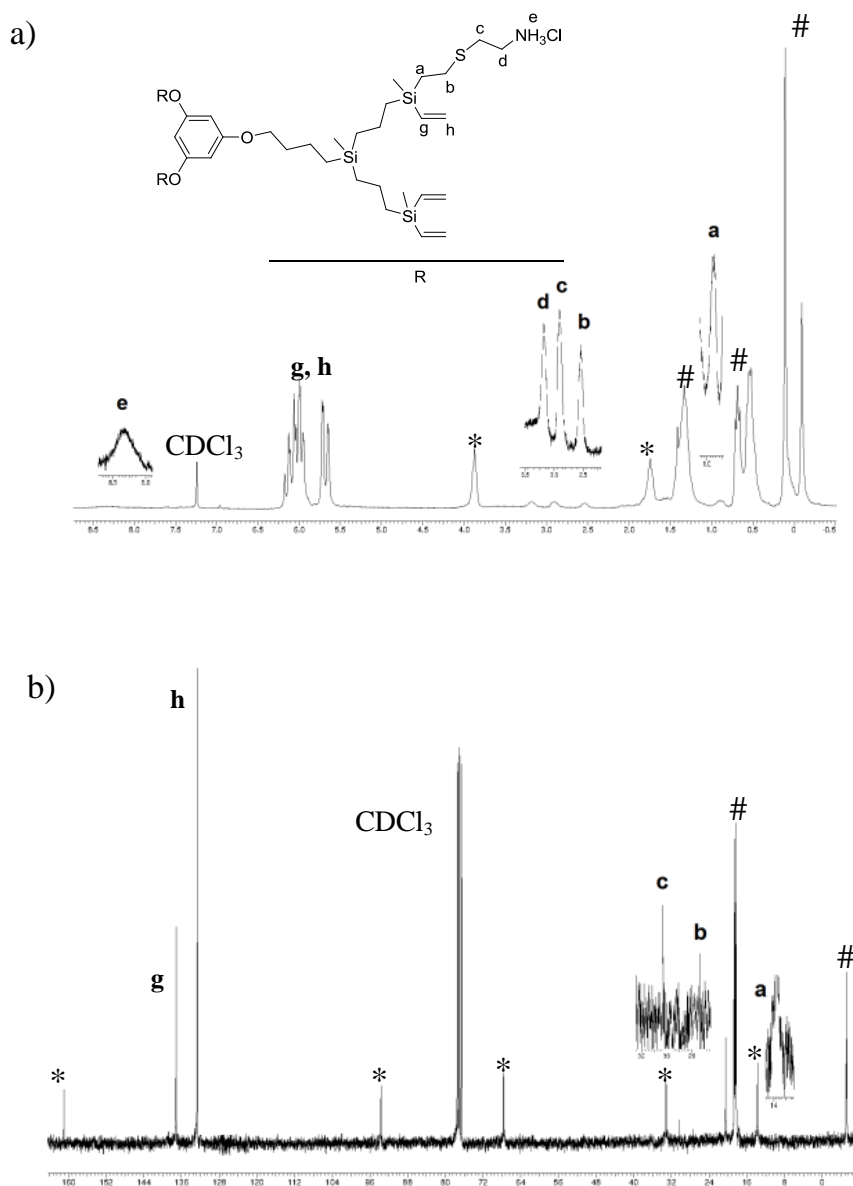


Figura 2.31 Espectro de a) RMN-¹H y b) ¹³C{¹H} en CDCl₃ de G₂O₃(S-NH₃⁺)V₁₁ (51), # = CBS, * = señales características del núcleo dendrítico.

b) $G_nO_3(S-NH_3^+)(S-NMe_2H^+)_{m-1}$ (54-57)

Una vez corroborada la unión del hidrocloreto de cisteamina, se procedió con la adición del segundo tiol, hidrocloreto de 2-(dimetilamino)etanotiol. Como en el caso de los dendrímeros esféricos **23-35**, se pudo comprobar la finalización de la reacción en los espectros de RMN por la desaparición completa de las señales correspondientes a los grupos vinilo del dendrímero, así como la introducción de los nuevos grupos introducidos (Tabla 2.12).

	RMN- 1H	RMN- $^{13}C\{^1H\}$
SiCH ₂ CH ₂ S a	1.80	14.4
SiCH ₂ CH ₂ S b	2.55	26.9
SCH ₂ CH ₂ N c	2.89	28.1
SCH ₂ CH ₂ N d	3.20	38.9
-NH ₃ ⁺ e	8.32	-

Tabla 2.12 Datos de RMN para $G_1O_3(S-NH_2 \cdot HCl)(S-NMe_2 \cdot HCl)_5$ (**54**; δ , DMSO).

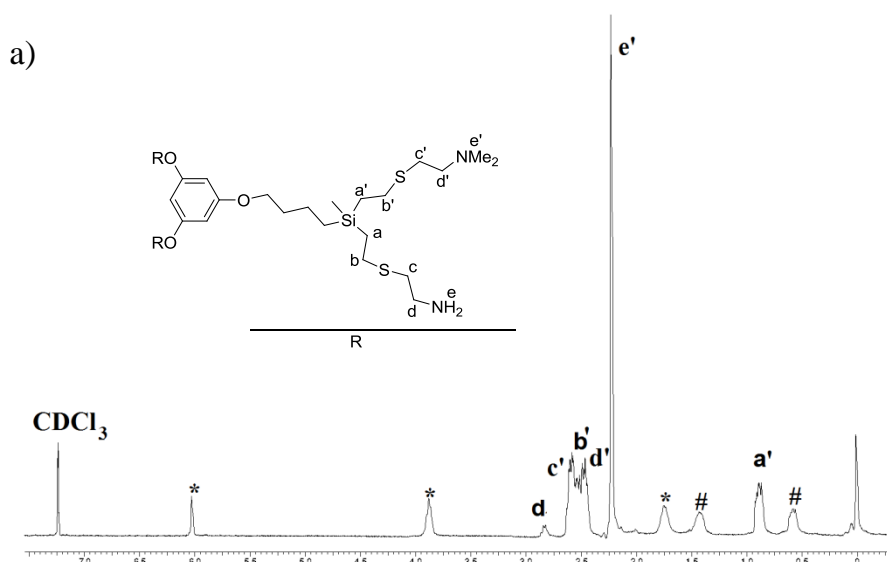
c) $G_nO_3(S-NH_2)(S-NMe_2)_{m-1}$ (58-61)

Tras la basificación de los derivados anteriores se obtienen los compuestos $G_nO_3(S-NH_2)(S-NMe_2)_{m-1}$ (**58-61**) observándose en los espectros de RMN un desplazamiento de las señales análogo al anteriormente descrito para los derivados homofuncionalizados con grupos $-NMe_2$ (**39-42**). Además para el derivado de primera generación en el espectro de RMN- 1H se puede observar la señal del metileno adyacente al grupo $-NH_2$ en torno 2.8 ppm, y en el espectro de RMN- ^{13}C las dos señales correspondientes a la nueva cadena $-SCH_2CH_2NH_2$ a 36 y 41 ppm respectivamente (Tabla 2.13). Sin embargo, estas señales no se observan claramente en el resto de derivados debido a la gran intensidad relativa del resto de señales. No obstante, la realización de un test de Kaiser permite corroborar la presencia de los grupos amino primarios $-NH_2$.

	RMN- ¹ H	RMN- ¹³ C{ ¹ H}
SiCH ₂ CH ₂ S a	0.90	14.6
SiCH ₂ CH ₂ S b	2.52	27.2
SCH ₂ CH ₂ N c	2.47	36.3
SCH ₂ CH ₂ N d	2.82	41.2

Tabla 2.13 Datos de RMN para G₁O₃(S-NH₂)(S-NMe₂)₅(**58**; δ, CDCl₃).

En cuanto al espectro gHMBC{¹H-¹⁵N} sólo se pudo comprobar la presencia de los dos tipos de nitrógenos presentes en estas estructuras en el derivado G₂O₃(S-NH₂)₄(S-NMe₂)₈ (**59c**) que es el que presenta la mayor proporción de grupos amino primario. En dicho espectro aparecían dos señales, una a -359 (-NH₂) y otra a -353 ppm (-NMe₂).



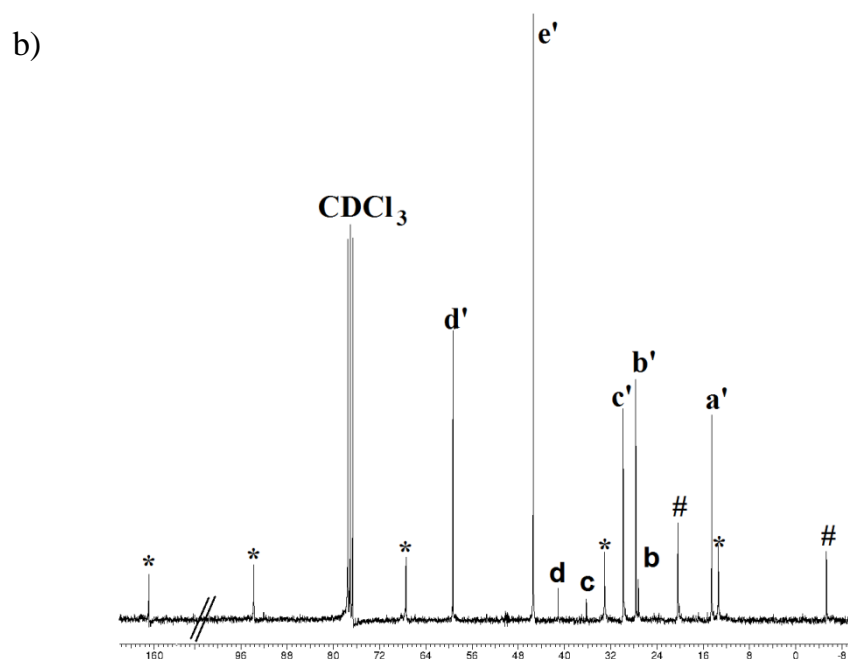


Figura 2.32 Espectros de a) $\text{RMN-}^1\text{H}$ y b) $^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ del compuesto $\text{G}_1\text{O}_3(\text{S-NH}_2)(\text{S-NMe}_2)_5$ (58, δ , CDCl_3), # = CBS, * = señales características del núcleo dendrítico.

2.4.2.2 Caracterización de $\text{G}_n\text{O}_3(\text{NMeFITC})(\text{S-NMe}_3^+)_{m-1}$ (66-69)

i. Espectroscopía de resonancia magnética nuclear

a) $\text{G}_n\text{O}_3(\text{NHFITC})(\text{S-NMe}_2)_{m-1}$ (62-65)

La total unión de la fluoresceína a los grupos amino primarios $-\text{NH}_2$ se pudo comprobar mediante la realización de un test de Kaiser al bruto de reacción de los intermedios $\text{G}_n\text{O}_3(\text{NHFITC})(\text{S-NMe}_2)_{m-1}$ ($n = 1, 2, 3, 4$; $m = 6, 12, 24, 48$, 62-65) con isotiocianato de fluoresceína. Estos derivados no se aislaron, razón por la que no se caracterizaron de forma completa.

b) $\text{G}_n\text{O}_3(\text{NMeFITC})(\text{S-NMe}_3^+)_{m-1}$ (66-69)

La gran intensidad relativa de las señales correspondientes a las cadenas que contienen grupos amino terciarios frente a la única cadena con un grupo distinto, además del solapamiento de las nuevas señales adyacentes al enlace tiourea, dificulta la caracterización de los derivados fluoresceinados mediante

espectroscopía de RMN, análogamente a lo que sucedía para los precursores **58-61**. No obstante la utilización de resonancia magnética nuclear, junto a otras técnicas (IR, UV-Vis) permite obtener información relevante para la caracterización de los derivados aquí descritos.

Los espectros de RMN-¹H de los compuestos $G_nO_3(NMeFITC)(S-NMe_3^+)_{m-1}$ (**66-69**) muestran claramente dos grupos de señales, las correspondientes al dendrímico, idénticas a las obtenidas para los derivados catiónicos homofuncionalizados **46-49**, y otra región en torno a 6.5 ppm, en la que aparecen las señales correspondientes a la fluoresceína.

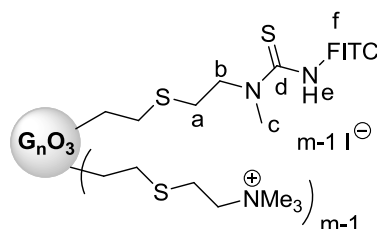


Figura 2.33 Denominación de los distintos tipos de carbono e hidrógeno presentes en los dendrímeros $G_nO_3(NMeFITC)(S-NMe_3^+)_{m-1}$ (**66-69**).

Una forma de evaluar la unión del grupo fluoresceinado al dendrímico es realizar espectros de difusión DOSY-2D comparando el producto obtenido después de la reacción con la mezcla de los reactivos iniciales. En nuestro caso la mezcla inicial presenta dos frentes, uno para la fluoresceína y otro para el dendrímico que indica que tienen diferentes coeficientes de difusión. Sin embargo, la realización del experimento DOSY-2D después de llevar a cabo la reacción muestra el mismo coeficiente de difusión para todas las señales, indicando la unión de la fluoresceína al esqueleto dendrítico para los derivados **66-69** (Figura 2.34).

A continuación se describirá la caracterización realizada por RMN para el dendrímico de primera generación al encontrarse una mayor intensidad de las señales relevantes en RMN-¹H y -¹³C.

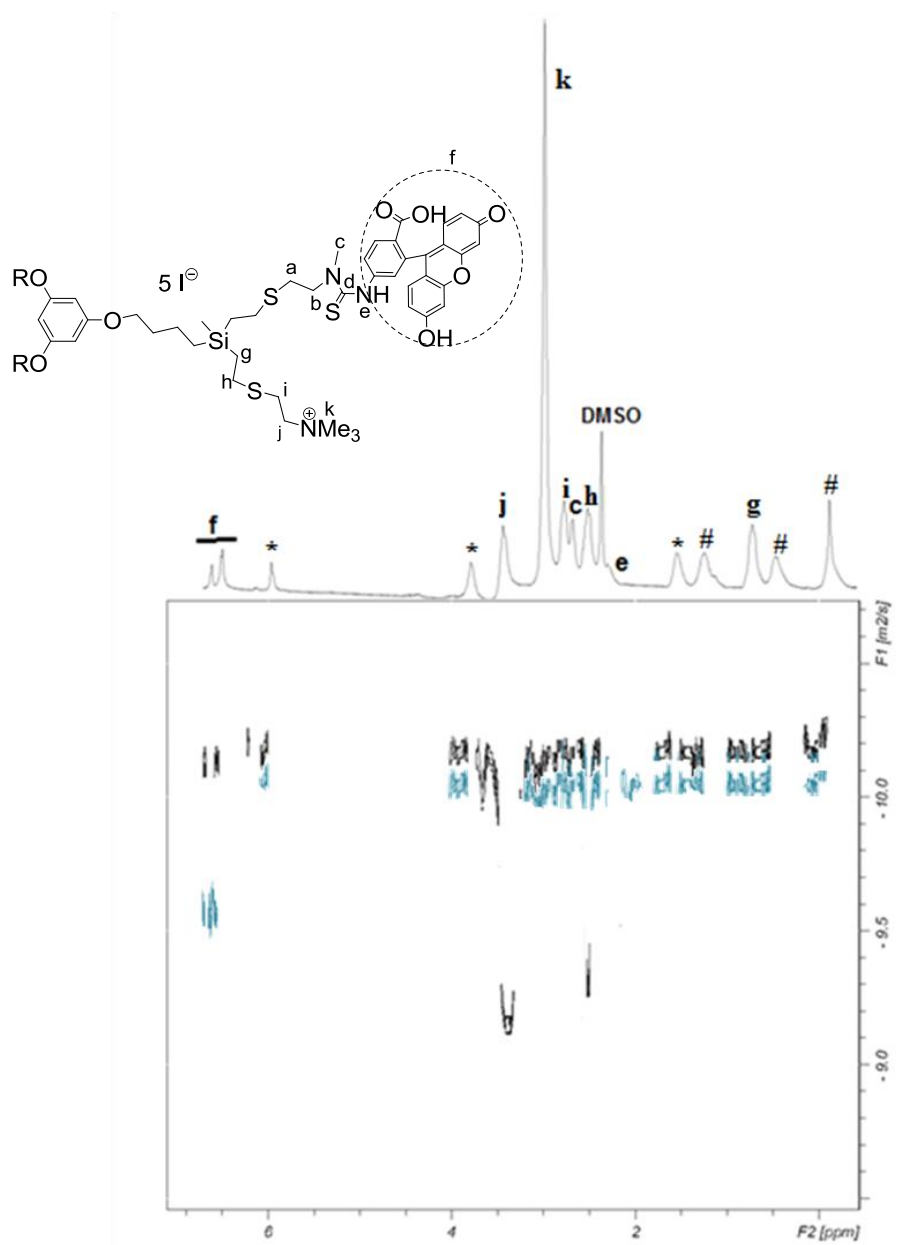
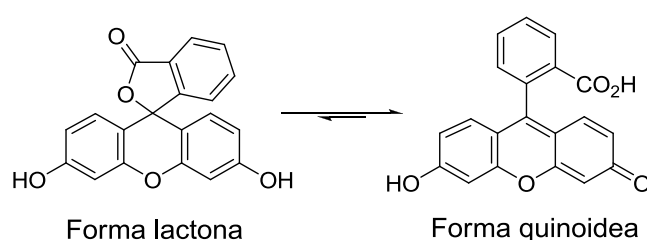


Figura 2.34 Espectro RMN- ^1H (arriba, δ , DMSO- d_6) y DOSY-2D (abajo) del derivado $G_1\text{O}_3(\text{NMeFITC})(\text{S-NMe}_3^+)_11$ (**66**, negro) y de la mezcla física $G_1\text{O}_3(\text{S-NH}_2)(\text{S-NMe}_2)_11$ (**58**) + FITC (azul), # = CBS, * = señales características del núcleo dendrítico.

En cuanto al espectro de RMN- ^1H (Figura 2.34), no se pudo observar en éste la unión directa de la fluoresceína al dendrímero debido a que el desplazamiento correspondiente al grupo metileno **b** presenta un desplazamiento muy similar al de los grupos metileno directamente unidos a los grupos amonio periféricos ($\text{CH}_2\text{NMe}_3^+$). Sin embargo, el espectro de RMN- ^1H sí permite observar, tras el proceso de purificación, la presencia de las señales correspondientes a los anillos del grupo fluorescente introducido **f**, ya que

aparecen como dos señales anchas en torno a 6.6 y 6.7 ppm así como una serie de señales muy anchas de mucha menor intensidad que aparecen entre 7.0 y 8.5 ppm, y que se deben al equilibrio entre las formas de tipo quinoidea y lactona que presenta la fluoresceína en disolución (Esquema 2.22).⁵⁹ De los dos tipos de especies, las mayoritarias en disoluciones acuosas son las de tipo quinoidea, razón por la que la fluoresceína se representa de esta manera en las estructuras propuestas.



Esquema 2.22 Equilibrio presentado por las especies de fluoresceína en disolución acuosa.

Además de las señales correspondientes a la fluoresceína, en el espectro de RMN-¹H se observan otras dos señales nuevas, una a 2.4 y otra a 2.8 ppm, correspondientes al protón del nitrógeno externo del enlace tiourea (**e**) y al metilo introducido en el nitrógeno interno del enlace tiourea (**c**) respectivamente. Estas señales se pudieron asignar mediante la realización de experimentos de correlación TOCSY y HSQC{¹H-¹³C} (Figura 2.35).

El espectro de RMN-¹³C es similar al descrito para los derivados homofuncionalizados pero con las nuevas señales correspondientes al fragmento fluoresceína. Así se observan tres señales entre 100 y 130 ppm (**f**) que, tal y como se puede observar en el espectro correspondiente HSQC{¹H-¹³C} (Figura 2.35), correlacionan con los dos singletes anchos observados en RMN-¹H a 6.6 y 6.7 ppm (**f**), anteriormente asignados a la forma mayoritaria de la fluoresceína. También se observa el grupo metilo (**c**) a 42 ppm, que correlaciona con la señal que aparece a 2.8 ppm en protón. En cuanto a la señal que aparece a 2.4 ppm (**e**), no se observa ninguna correlación en ninguno de los espectros bidimensionales siendo esperable, por tanto, que se corresponda con un protón unido a un heteroátomo.

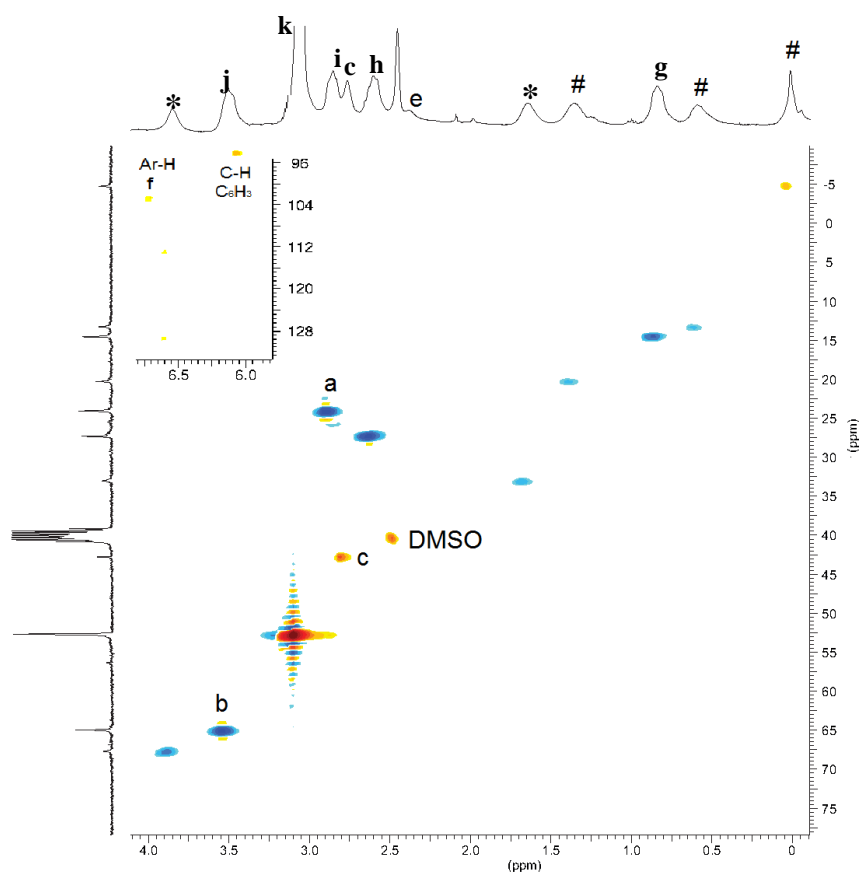


Figura 2.35 Espectro HSQC $\{^1\text{H}-^{13}\text{C}\}$ del derivado $G_1O_3(\text{NMeFITC})(\text{S-NMe}_3^+)_5$ (**66**, δ , DMSO- d_6); CH y CH_3 (naranja), CH_2 (azul), # = CBS, * = señales características del núcleo dendrítico.

ii. Espectroscopía infrarroja

La espectroscopía infrarroja resultó útil tanto para seguir la evolución de la reacción como para comprobar la pureza del producto final, especialmente para las generaciones superiores en las que el seguimiento por RMN resultaba complicado. Por ello en primer lugar se realizaron los espectros correspondientes a los dendrímeros homofuncionalizados y a la molécula de isotiocianato de fluoresceína.

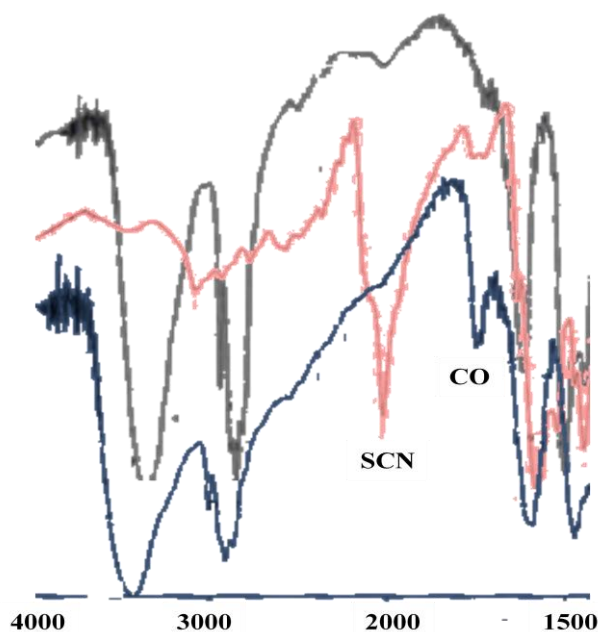


Figura 2.36 Espectro IR de $G_2O_3(S-NMe_3^+)_{12}$ (**47**, negro), FITC (rojo) y $G_2O_3(NMeFITC)(S-NMe_3^+)_{11}$ (**67**, azul).

Mientras que en el espectro de los dendrímeros homofuncionalizados no destaca la banda de ningún grupo funcional significativo, en el espectro correspondiente a la molécula de isotiocianato de fluoresceína se puede observar la señal del grupo isotiocianato que aparece como una banda muy intensa a 2034 cm^{-1} (Figura 2.36). Asimismo se puede observar la frecuencia de tensión correspondiente al grupo carbonilo del grupo ácido (1752 cm^{-1}). Finalmente, el espectro correspondiente a los derivados catiónicos sustituidos con un grupo fluoresceína (**66-69**) poseen la banda correspondiente a la frecuencia de tensión del grupo ácido, pero no se observa el pico correspondiente al grupo isotiocianato, corroborando la total eliminación de la fluoresceína libre durante la purificación.

iii. Espectroscopía ultravioleta-visible

El registro de los espectros UV-Vis del dendrímero homofuncionalizado, el derivado isotiocianato de fluoresceína y el dendrímero marcado con fluoresceína contribuye a la caracterización de los compuestos **66-69** (Figura 2.37). Los dendrímeros homofuncionalizados $G_nO_3(S-NMe_3^+)_m$ (**46-49**) presentan un único pico a 224 nm mientras que el isotiocianato de fluoresceína presenta

tres picos a 231, 275 y 485 nm, siendo este último el característico del grupo fluoresceína. Esta última banda consta además de un hombro a 453 nm. Una vez purificados los dendrímeros $G_nO_3(NMeFITC)(S-NMe_3^+)_{m-1}$ ($n = 1, 2, 3, 4$; $m = 6, 12, 24, 48$, **66-69**), se observan todas las bandas anteriores, aunque las bandas correspondientes a la fluoresceína se ven ligeramente modificadas, desplazándose la señal característica del grupo fluoresceína de 485 a 500 nm. Además, el hombro presente en esta banda disminuye su intensidad relativa con respecto a la que tiene inicialmente en el isotiocianato de fluoresceína.

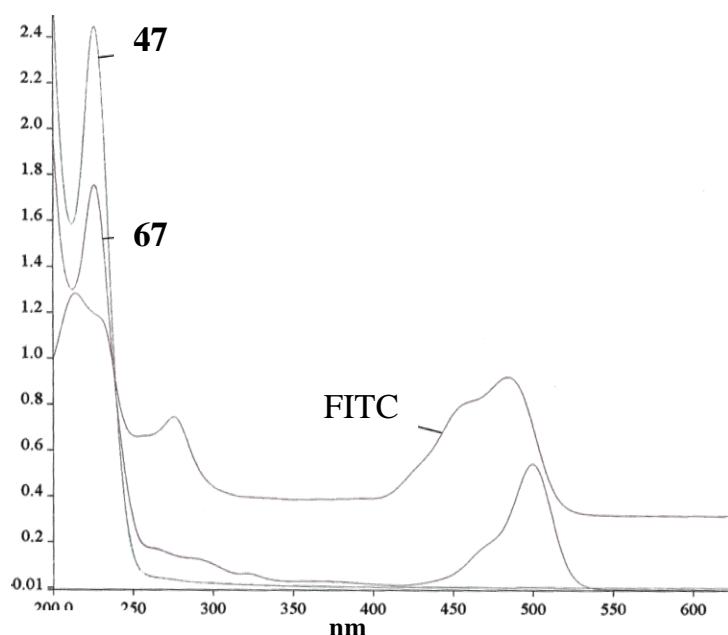


Figura 2.37 Espectros UV-Vis para $G_2O_3(S-NMe_3^+)_{12}$ (**47**), $G_2O_3(NMeFITC)(S-NMe_3^+)_{11}$ (**67**) e isotiocianato de fluoresceína (FITC).

2.4.3 Estudio preparativo de los dendrímeros que contienen ibuprofeno

El ibuprofeno es un antiinflamatorio no esteroideo con propiedades antitérmicas que se utiliza comúnmente para tratar diversos dolores. Es un fármaco lipofílico poco soluble en disoluciones acuosas, por lo que su unión a moléculas más polares podría utilizarse para aumentar su solubilidad facilitando su biodisponibilidad al evitar su unión a proteínas del plasma sanguíneo que reduce considerablemente la dosis de este fármaco.⁶⁰

Además, las macromoléculas dendríticas catiónicas presentadas en esta memoria mostraron tanto actividad biocida como propiedades adecuadas como agentes de transporte de material nucleico, tal y como se discute en el Capítulo 3, por lo que puede resultar interesante combinar estas cualidades con el carácter antiinflamatorio del ibuprofeno, ya que los procesos inflamatorios favorecen la aparición de infecciones. También tratamientos integrales de infecciones bacterianas han permitido reducir los síntomas, así como acelerar el proceso de cura en vaginosis bacteriana,⁶¹ celulitis⁶² o acné.⁶³ Por último, algunos estudios han mostrado que este fármaco posee también cierta capacidad antibacteriana⁶⁴

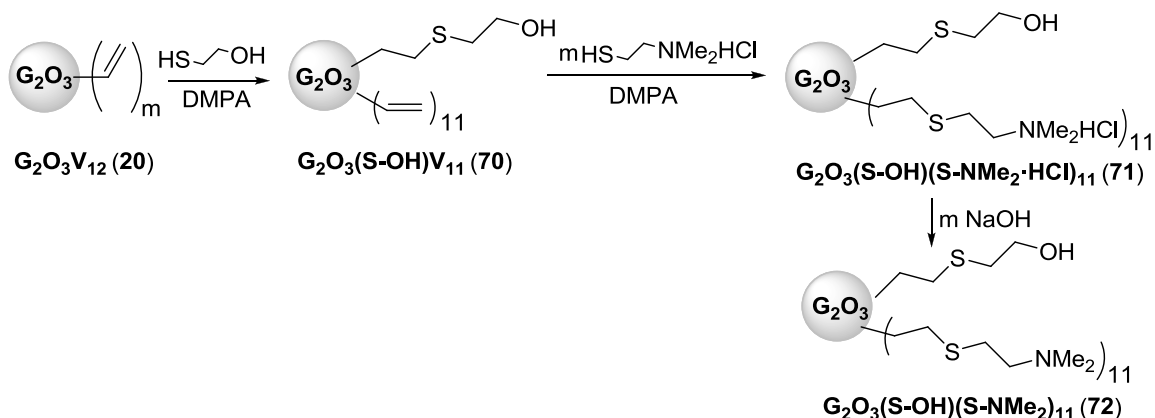
El ibuprofeno contiene además un grupo ácido que permite fácilmente su transformación mediante la formación de un enlace tipo éster. El enlace éster es lábil pudiendo hidrolizarse a pH ácido o en presencia de esterasas, lo cual permite la liberación del fragmento unido a través del mismo, en nuestro caso ibuprofeno, de manera íntegra al medio. Ello presenta una ventaja con respecto al enlace amida, mucho más fuerte, que si no se hidroliza de manera adecuada, no permitirá la acción del fármaco al no liberarlo.

Teniendo estos factores en cuenta, para obtener dendrímeros esféricos heterofuncionalizados con ibuprofeno se eligió como unión entre ellos un enlace éster, por lo que se sintetizaron dendrímeros heterofuncionalizados con grupos hidroxilo periféricos, empleándose un proceso de heterofuncionalización análogo al descrito en el apartado 2.4.2. En este estudio se seleccionó el dendrímero de segunda generación de núcleo polifenólico.

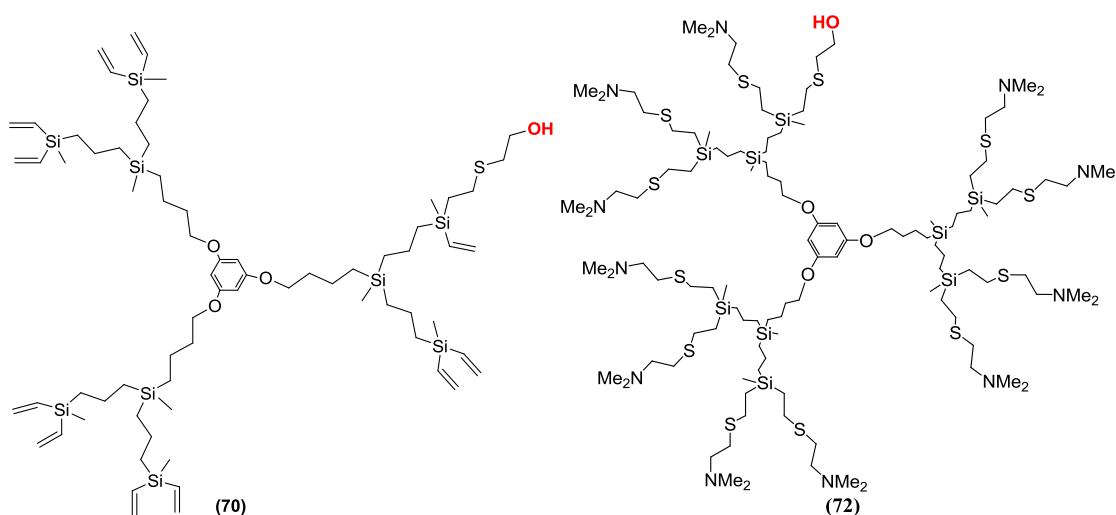
2.4.3.1 Síntesis de $G_2O_3(S-OH)(S-NMe_2)_{11}$ (72)

El dendrímero $G_2O_3V_{12}$ (**20**) se disuelve en una mezcla MeOH:THF (2:1) añadiéndose un equivalente del derivado tiol 2-mercaptoetanol, HSCH₂CH₂OH, en presencia de un 10 % de fotoiniciador (DMPA) en función del número de grupos vinilo a sustituir (Esquema 2.23, Figura 2.38). Tras irradiar la mezcla durante 30 minutos (365 nm) se genera el dendrímero heterofuncionalizado $G_2O_3V_{11}(S-OH)$ (**70**, Esquema 2.23). La espectroscopía de RMN-¹H y -¹³C del

bruto de reacción confirma la formación del intermedio $G_2O_3(S-OH)V_{11}$ (**70**) en la estequiometría seleccionada (próxima a uno).



*Esquema 2.23 Síntesis del derivado $G_2O_3(S-OH)(S-NMe_2)_{11}$ (**72**).*



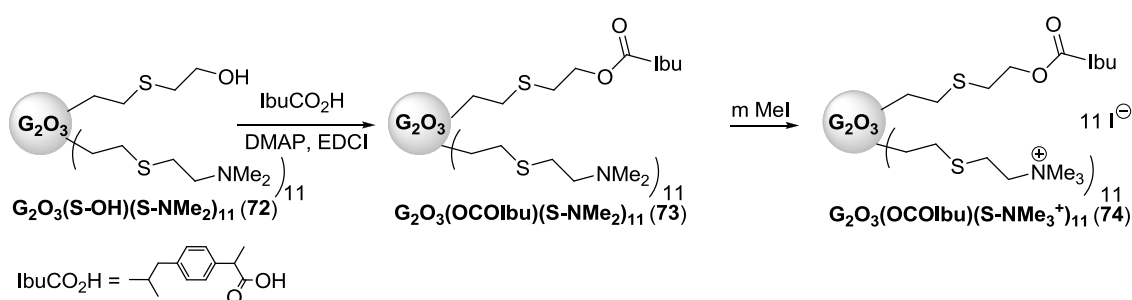
*Figura 2.38 Estructura de los compuestos $G_2O_3(S-OH)V_{11}$ (**70**) y $G_2O_3(S-OH)(S-NMe_2)_{11}$ (**72**).*

A continuación, sin aislar el derivado **70**, se añade el segundo tior, en nuestro caso hidrocioruro de 2-(dimetilamino)etanotior, HSCH₂CH₂NMe₂·HCl y el fotoiniciador necesario para completar la total sustitución de los grupos vinilo y se irradia la mezcla de reacción durante 3 h más (Esquema 2.23). Siguiendo este procedimiento se obtuvo el dendrímero catiónico $G_2O_3(S-OH)(S-NMe_2 \cdot HCl)_{11}$ (**71**) como un sólido amarillento soluble en agua, alcoholes de cadena corta y DMSO con un rendimiento superior al 80 %. La neutralización en medio básico del compuesto **71** permite obtener el correspondiente derivado con grupos amino periféricos $G_2O_3(S-OH)(S-NMe_2)_{11}$ (**72**) como un aceite soluble en

disolventes halogenados, THF o DMF, pero no en agua o disolventes poco polares como hexano o Et₂O (Figura 2.38).

2.4.3.2 Síntesis de $G_2O_3(OCOibu)(S-NMe_3^+)_11$ (**74**)

Para introducir el fragmento ibuprofeno en el dendrímero neutro $G_2O_3(S-OH)(S-NMe_2)_{11}$ (**72**), se hizo reaccionar éste durante tres días con ibuprofeno utilizando una carbodiimida (EDCI) como agente activante y una amina (DMAP) como base (Esquema 2.24). Tras la evaporación de los volátiles se purificó el compuesto mediante columna de exclusión por tamaños en THF obteniéndose finalmente el derivado $G_2O_3(OCOibu)(S-NMe_2)_{11}$ (**73**) como un aceite amarillento con rendimientos elevados. A continuación, la alquilación de los grupos amino terciarios con yoduro de metilo conduce al correspondiente derivado catiónico $G_2O_3(OCOibu)(S-NMe_3^+)_{11}$ (**74**), que se obtiene con rendimientos moderados como un sólido de color amarillo soluble en agua y DMSO, pero no en compuestos menos polares o alcoholes (Figura 2.39).



Esquema 2.24 Síntesis del derivado $G_2O_3(OCOibu)(S-NMe_3^+)_{11}$ (**74**).

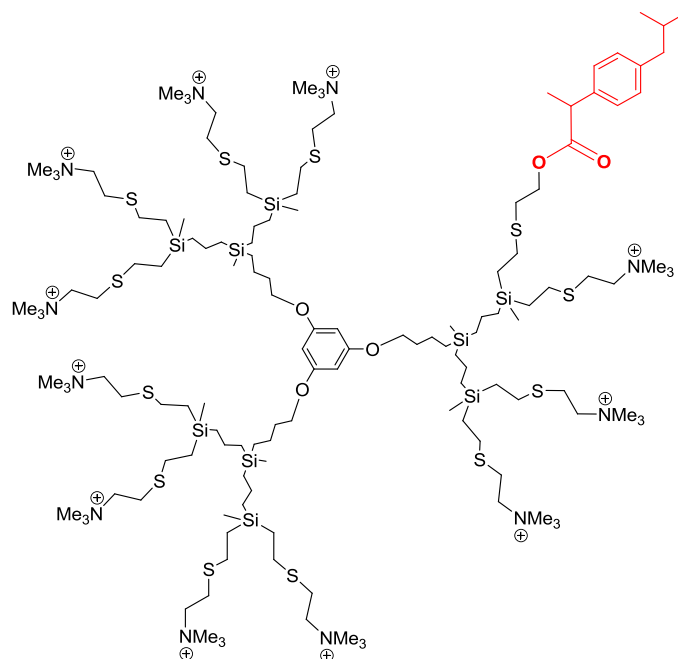


Figura 2.39 Estructura del compuesto $G_2O_3(OCOibu)(S-NMe_3^+)_{11}$ (**74**).

2.4.4 Estudio estructural de los dendrímeros que contienen ibuprofeno

2.4.4.1 Caracterización de $G_2O_3(S-OH)(S-NMe_2)_{11}$ (**72**)

Tal y como se ha comentado anteriormente, el proceso sintético fue corroborado por resonancia magnética nuclear. En todos los compuestos descritos en este apartado vamos a fijarnos en la cadena introducida con el grupo alcohol terminal, puesto que el resto de señales serán idénticas a las de los compuestos con grupos amino o amonio en la periferia anteriormente descritos.

a) $G_2O_3(S-OH)V_{11}$ (**70**)

El primer paso sintético fue la adición de un equivalente de 2-mercaptoetanol al dendrímero $G_2O_3V_{12}$ (**20**). En esta reacción se observa la aparición de las señales correspondientes a **n** y **o**, los metilenos de la nueva cadena formada, $-SiCH_2CH_2S-$, tanto en RMN-¹H (0.9 y 2.5 ppm, Figura 2.40) como en RMN-¹³C (15 y 27 ppm aproximadamente). Como en los dendrímeros heterofuncionalizados $G_nO_3(S-NH_3Cl)V_{m-1}$ (**50-53**), el valor de la integral de

estas resonancias permite comprobar la proporción del derivado tiol en el compuesto final mediante la comparación de las áreas de las señales nuevas con la de las señales originales del dendrímtero, obteniéndose valores próximos a la estequiometría seleccionada (1 -OH : 11 SiC₂H₃). Asimismo, las señales correspondientes a los metilenos de la cadena externa SCH₂CH₂OH se observan en el espectro de RMN-¹H a 2.7 y 3.7 ppm, y en el de RMN-¹³C a 35 y 60 ppm respectivamente, mientras que el protón del grupo hidroxilo -OH aparece a 2.8 ppm en RMN-¹H.

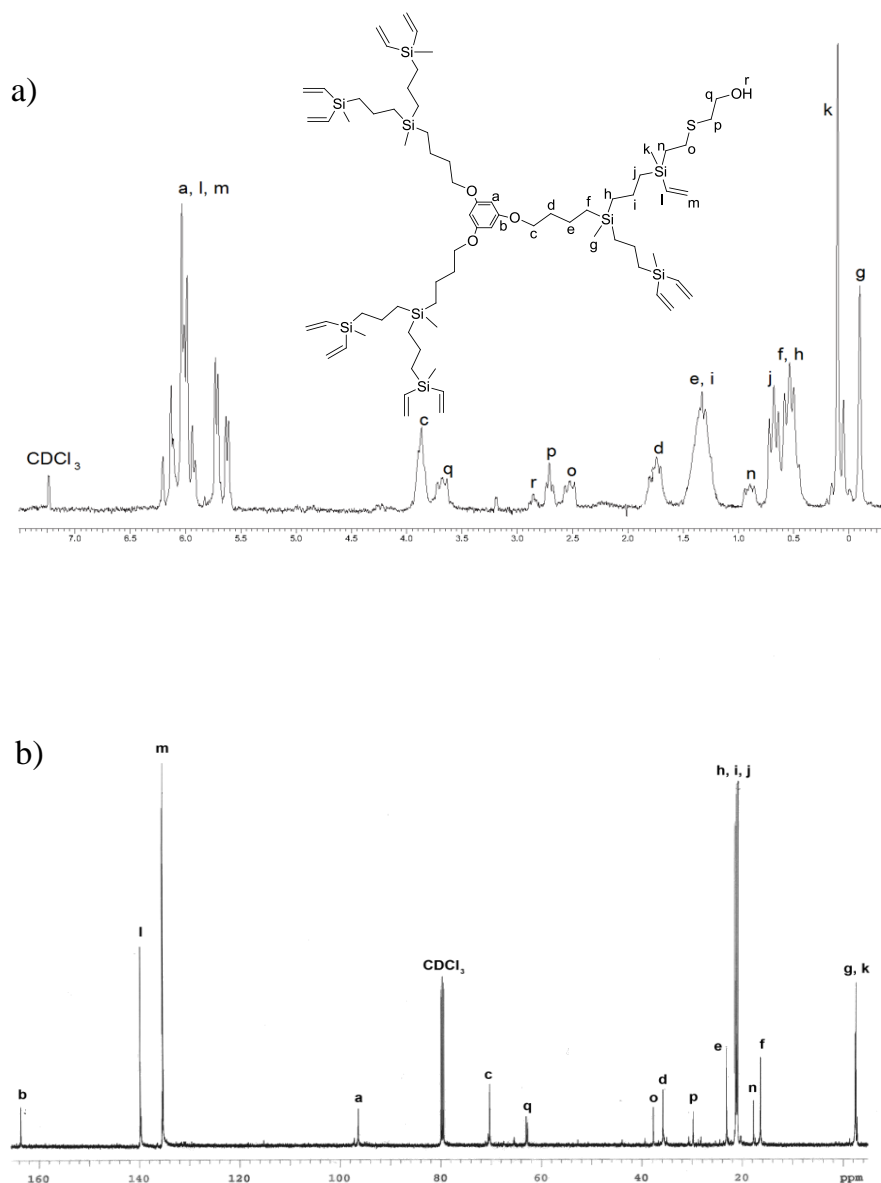


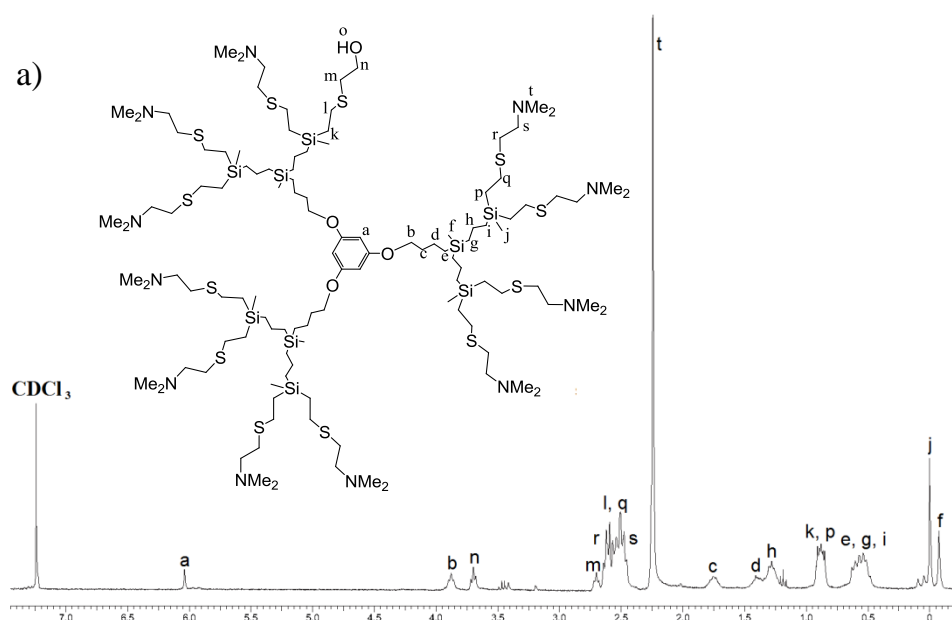
Figura 2.40 Espectro a) RMN-¹H y b) -¹³C{²H} en CDCl₃ de G₂O₃(S-OH)V₁₁ (70).

b) $G_2O_3(S-OH)(S-NMe_2 \cdot HCl)_{11}$ (71)

Una vez corroborada la unión del 2-mercaptoetanol, se procedió con la adición del segundo derivado tiol, 2-(dimetilamino)etanotiol hidrocloreuro. Como en el caso de los dendrímeros esféricos **23-35**, se pudo comprobar la finalización de la reacción por la desaparición completa de las señales correspondientes a los grupos vinilo del dendrímero en los espectros de RMN y la aparición de las nuevas resonancias correspondientes a las cadenas $SiCH_2CH_2S$ (0.9 y 2.6 ppm) y $SCH_2CH_2N^+$ (2.9 y 3.2 ppm).

c) $G_2O_3(S-OH)(S-NMe_2)_{11}$ (72)

La basificación del derivado anterior da lugar a un desplazamiento de las señales análogo al anteriormente descrito para los derivados homofuncionalizados con grupos $-NMe_2$ (**39-42**) (Figura 2.41), sin afectar al grupo hidroxilo. En estos derivados no se observa el protón $-OH$ probablemente debido a la formación de puentes de hidrógeno entre el mismo y los grupos amino situados en la periferia dendrítica.



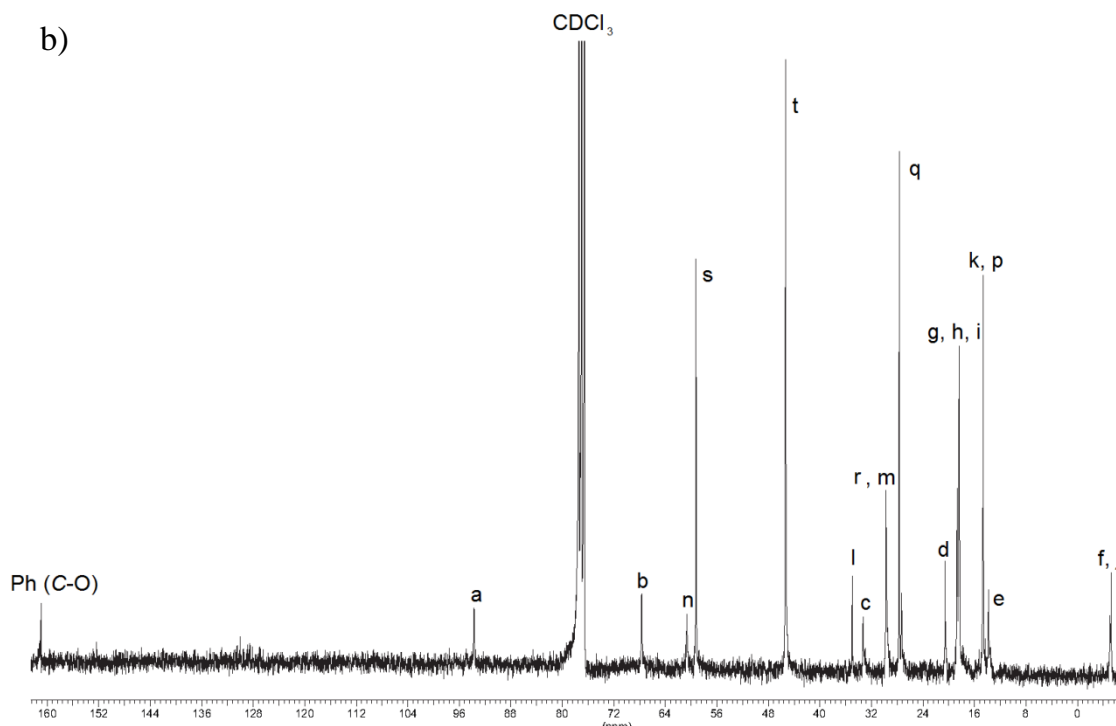


Figura 2.41 Espectro a) RMN- ^1H y b) $^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ en CDCl_3 de $\text{G}_2\text{O}_3(\text{S-OH})(\text{S-NMe}_2)_{11}$ (72).

2.4.4.2 Caracterización de $\text{G}_2\text{O}_3(\text{OCOIbu})(\text{S-NMe}_3^+)_{11}$ (74)

a) $\text{G}_2\text{O}_3(\text{OCOIbu})(\text{S-NMe}_2)_{11}$ (73)

En los espectros de RMN la señal más relevante de la formación del enlace éster es la correspondiente al metileno adyacente al átomo de oxígeno (\mathbf{n}_2 , CH_2OCOIbu , Figura 2.42) que en RMN- ^1H se desplaza de 3.7 a 4.1 ppm y en RMN- ^{13}C de 61 a 64 ppm.

Además para ratificar la unión del grupo ibuprofeno al dendrímero se realizó un espectro DOSY-2D en el que se observa la difusión conjunta de las señales correspondientes a la parte del dendrímero y de aquellas nuevas correspondientes al grupo ibuprofeno (Figura 2.42). La realización de un espectro análogo a la mezcla inicial de reacción entre el dendrímero $\text{G}_2\text{O}_3(\text{S-OH})(\text{S-NMe}_2)_{11}$ (72) y el ibuprofeno, permitía observar una clara diferencia entre los coeficientes de difusión de ambos tipos de derivados.

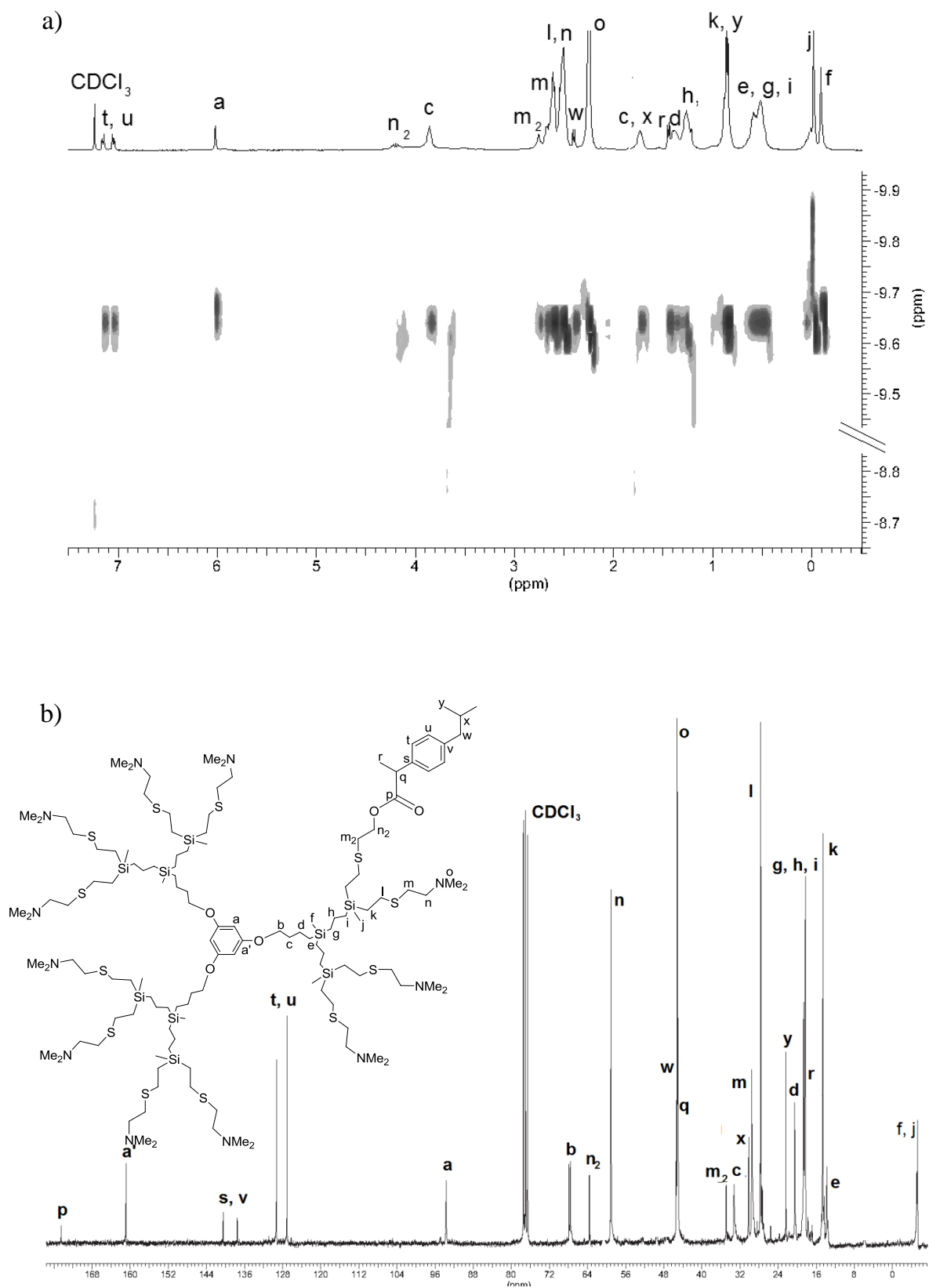


Figura 2.42 a) RMN- ^1H y DOSY-2D y b) RMN- $^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ del compuesto $\text{G}_2\text{O}_3(\text{OCOibu})(\text{S-NMe}_2)_{11}$ (**73**, δ , CDCl_3).

b) $G_2O_3(OCOibu)(S-NMe_3^+)_11$ (74**)**

La cuaternización de los grupos amino periféricos del compuesto **73** con MeI para formar **74**, produce unos desplazamientos en las señales próximas a nitrógeno, análogos a los ya descritos para los derivados homofuncionalizados $G_nY(S-NMe_3^+)_m$ (**43-49**), tal y como se puede observar en la Figura 2.43. La presencia de las señales del fragmento ibuprofeno en DMSO- d_6 ratifican la presencia del mismo en el dendrímero final. En este espectro se observa además un ensanchamiento de las señales debido a la gran lipofilia del esqueleto carbosilano.

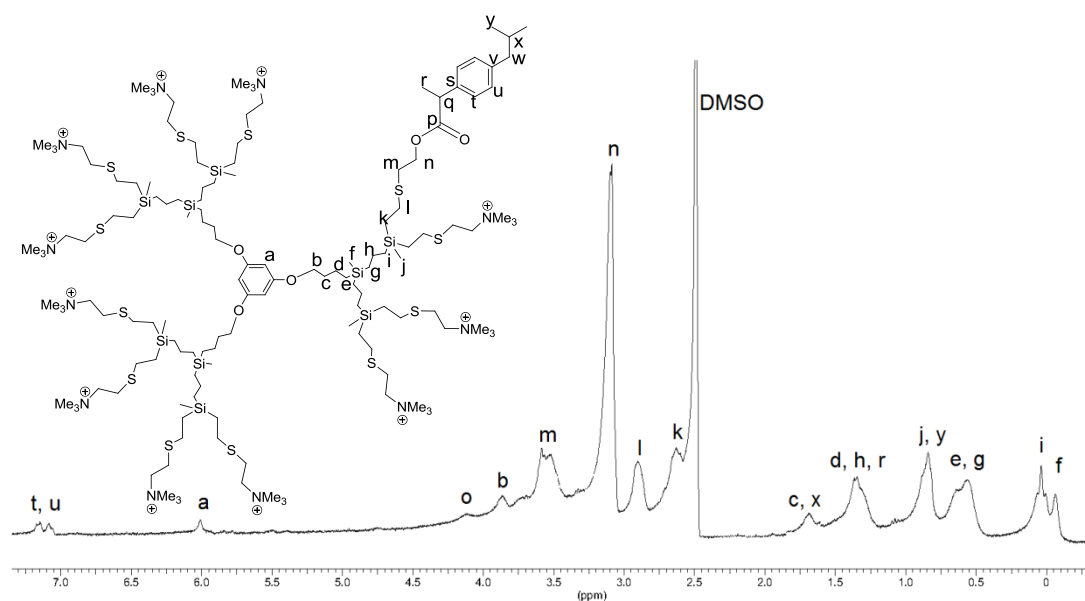


Figura 2.43 Espectro de RMN- 1H de $G_2O_3(OCOibu)(S-NMe_3^+)_11$ (**74**, δ , DMSO- d_6).

2.5 Síntesis de cuñas con distintos puntos focales

La heterofuncionalización estadística de dendrímeros es una estrategia sintética adecuada para la introducción de distintos grupos funcionales en la periferia dendrítica. Sin embargo, la utilización de estos sistemas en algunas aplicaciones podría conducir a resultados no del todo reproducibles, ya que no todas las moléculas tienen el mismo grado de heterofuncionalización.

Con el fin de obtener macromoléculas dendríticas heterofuncionalizadas de una manera precisa, se propone la obtención de dendrones catiónicos con distintos puntos focales:

- i. Un grupo azida ($-N_3$)
- ii. Un grupo amino primario ($-NH_2$)
- iii. Un grupo fenol derivado de la hidroquinona ($-OC_6H_4OH$)
- iv. Un grupo alcohol derivado del etilenglicol ($-OC_2H_4OH$)

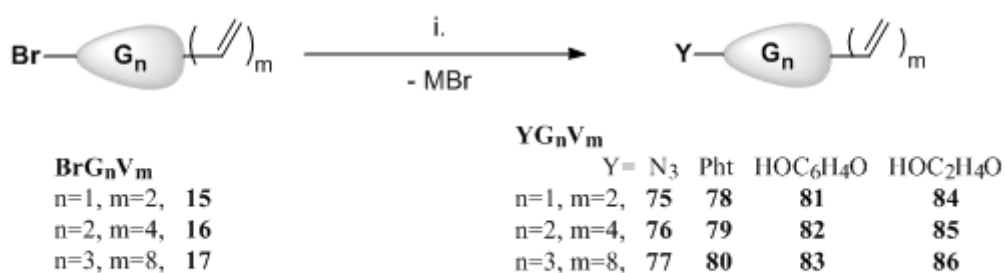
El interés de estos grupos radica en la rica reactividad de los mismos. Así la presencia de un grupo azida posibilita el uso de acoplamientos azida-alquino para la unión a otros sistemas de interés que presenten un triple enlace. El grupo amino abre la posibilidad de realizar uniones covalentes a otros compuestos que contengan un grupo ácido a través de la formación de un enlace amida, e incluso con otro grupo amino primario, formando un enlace urea. El grupo fenol permitirá la unión de haloderivados formándose un enlace de tipo éter. Por último, a través del grupo alcohol pueden tener lugar reacciones de esterificación con ácidos o derivados de ácido formándose un enlace éster. Todos los tipos de enlace aquí planteados son bastante habituales en el desarrollo de sistemas para aplicaciones biomédicas.

2.5.1 Estudio preparativo de dendrones con distintos puntos focales

2.5.1.1 Síntesis de YG_nV_m (75-86)

Para obtener cuñas con distintos puntos focales se partió de dendrones que contenían un átomo de bromo en el punto focal y grupos vinilo periféricos BrG_nV_m (15-17) introduciendo los distintos grupos funcionales mediante adiciones de tipo nucleófilo aprovechando la reactividad del halógeno en el punto focal (Esquema 2.25). Debido a que los dendrones con grupos vinilo periféricos se emplearían más adelante para obtener dendrones catiónicos vía adición tioreno, la estrategia global empleada implica que los puntos focales no han de interferir en dicha reacción. Por ello, se han preparado derivados ftalimida como precursores de grupos amino primarios. En el caso de los grupos alcohol y fenol era necesaria la presencia de una base capaz de desprotonar a las moléculas de partida generando el nucleófilo deseado.

Todos los dendrones descritos en este apartado con grupos vinilo periféricos, YG_nV_m (75-86), se obtienen como aceites solubles en disolventes alifáticos, aromáticos, éteres y halogenados.



i. NaN_3 , 18C6 (75-77); KPht, NaI (78-80); HO_C₆H₄OH, K₂CO₃, 18C6 (81-83); a) HO_C₂H₄OH, NaH b) NaI, 18C6 (84-86)

Esquema 2.25 Síntesis de dendrones con grupos vinilo terminales y distintos puntos focales.

a) $N_3G_nV_m$ (75-77)

La sustitución del átomo de bromo por azida en las cuñas BrG_nV_m ($n = 1, 2, 3$ y $m = 2, 4, 8$, **15-17**) se llevó a cabo con NaN_3 en exceso (2 equivalentes), en presencia de éter corona 18C6, en acetona como disolvente y calentando durante 16 h a 60 °C en una ampolla con llave de teflón. Tras el correspondiente tratamiento se obtuvieron los compuestos de fórmula $N_3G_nV_m$, ($n = 1, 2, 3$; $m = 2, 4, 8$, **75-77**) con rendimientos aproximadamente del 90 % (Figura 2.44). Estos compuestos pueden ser almacenados durante periodos de tiempo moderados, pues tras varias semanas se observaba la descomposición del punto focal azida.

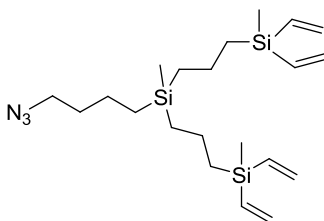


Figura 2.44 Estructura del compuesto $N_3G_2V_4$ (**76**).

b) $PhtG_nV_m$ (78-80)

Con el fin de obtener compuestos catiónicos con un grupo amino primario en el punto focal se hizo uso de la síntesis de Gabriel.⁶⁵ En el primer paso de dicha síntesis se obtiene un grupo amino primario protegido en forma de ftalimida que debe ser desprotegido posteriormente. Por ello, a partir de los derivados BrG_nV_m ($n = 1, 2, 3$ y $m = 2, 4, 8$, **15-17**) se sintetizaron las cuñas con ftalimida en el punto focal, que se prepararon utilizando como nucleófilo ftalimida de potasio, KPht (4 equivalentes), en presencia de NaI, calentando en DMF durante 16 h a 80 °C, en una ampolla con llave de teflón. Así, tras la purificación se obtienen los derivados $PhtG_nV_m$ ($n = 1, 2, 3$ y $m = 2, 4, 8$ **78-80**), como aceites amarillentos con buenos rendimientos (Figura 2.45).

Una vez obtenidos los compuestos $PhtG_nV_m$ (**78-80**) se intentó la desprotección del punto focal para formar los respectivos dendrones con un grupo amino primario $-NH_2$ en el punto focal. Sin embargo, estos derivados no

podieron obtenerse pues al realizar este proceso en las condiciones de reacción habituales, calentando con hidracina en exceso, se obtenían productos de descomposición y sólo se conseguían aislar los productos deseados en rendimientos inferiores al 20 %. Hay que resaltar que este procedimiento realizado en dendrones con grupos alilo terminales sí permite obtener el grupo amino $-NH_2$ en el punto focal.⁴³

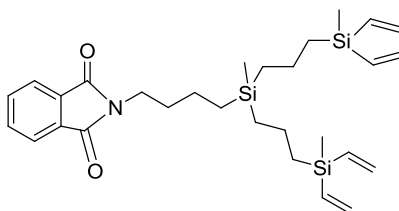


Figura 2.45 Estructura del compuesto PhG_2V_4 (79).

c) $HOC_6H_4OG_nV_m$ (81-83)

Para la síntesis de los derivados con un punto focal fenol se eligió la hidroquinona, debido a que los grupos $-OH$ aromáticos son relativamente sencillos de desprotonar y este sistema ha sido ampliamente estudiado en la generación de dendrímeros tipo aril éter.⁶⁶ Sin embargo, la presencia de dos funciones $-OH$ iguales requiere de una modificación en el proceso sintético y en la purificación. Además, en este caso hay que desprotonar el grupo hidroxilo para generar un grupo arilóxido suficientemente nucleófilo para producir la reacción.

Teniendo en cuenta lo anterior, partiendo de las cuñas BrG_nV_m ($n = 1, 2, 3$ y $m = 2, 4, 8$, **15-17**), y dejándolas reaccionar con un gran exceso de hidroquinona (10 equivalentes) en presencia de K_2CO_3 (2 equivalentes) como agente desprotonante y de 18-corona-6 (0.1 equivalentes), en acetona a $90\text{ }^\circ\text{C}$, en una ampolla con llave de teflón, durante 48 h, se obtiene una mezcla de los derivados $HOC_6H_4OG_nV_m$ ($n = 1, 2, 3$; $m = 2, 4, 8$, **81-83**, Figura 2.46) y de los productos análogos de disustitución. La relación encontrada por RMN en el bruto de reacción entre los compuestos **81-83**, y los derivados disustituídos, es superior al 95 %. La purificación por cromatografía en alúmina neutra (generación uno) o

por exclusión de tamaños (generación 2 y 3) permite obtener los compuestos monosustituídos puros $\text{HOC}_6\text{H}_4\text{OG}_n\text{V}_m$ (**81-83**) con rendimientos moderados.

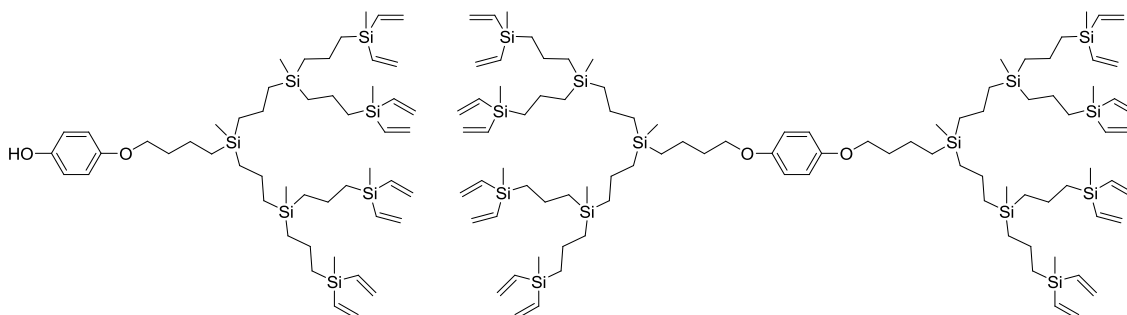


Figura 2.46 Estructura del compuesto $\text{HOC}_6\text{H}_4\text{OG}_3\text{V}_8$ (**83**, izq.) y de su análogo disustituído (dcha.).

d) $\text{HOC}_2\text{H}_4\text{OG}_n\text{V}_m$ (**84-86**)

Para generar dendrones con un grupo hidroxilo en el punto focal se decidió partir de etilenglicol. Como en el caso anterior, fue necesario desprotonar uno de los grupos hidroxilo con el fin de obtener un reactivo suficientemente nucleófilo. La menor acidez de estos grupos requirió el uso de una base más fuerte que en el caso de los derivados fenol, NaH. El tratamiento de etilenglicol (2 equivalentes) con NaH (2.5 equivalentes) en THF y a baja temperatura durante 1 h conduce a la formación del derivado monoalcóxido $\text{HOC}_2\text{H}_4\text{O}^-\text{Na}^+$, que no se aísla. Sobre esta disolución se añade otra de la cuña BrG_nV_m ($n = 1, 2, 3$ y $m = 2, 4, 8$; **15-17**), cantidades catalíticas de NaI y éter corona (0.2 equivalentes). A continuación, la mezcla de reacción se calienta a 100 °C en el caso del derivado de primera y segunda generación y a 120 °C para el de tercera. Después del tratamiento correspondiente se obtienen los derivados $\text{HOC}_2\text{H}_4\text{OG}_n\text{V}_m$, ($n = 1, 2, 3$ y $m = 2, 4, 8$; **84-86**) con rendimientos elevados (Figura 2.47). En este caso no se observa la formación del producto de disustitución, debido a que la generación de un dialcóxido está impedida en las condiciones de reacción utilizadas, así como a que se realiza la adición de los dendrones BrG_nV_m (**15-17**) sobre el nucleófilo evitando exceso del dendrón sobre el alcóxido en el medio de reacción.

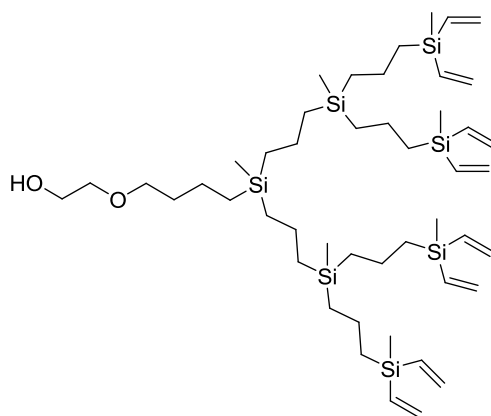


Figura 2.47 Estructura del compuesto $\text{HOC}_2\text{H}_4\text{OG}_3\text{V}_8$ (86).

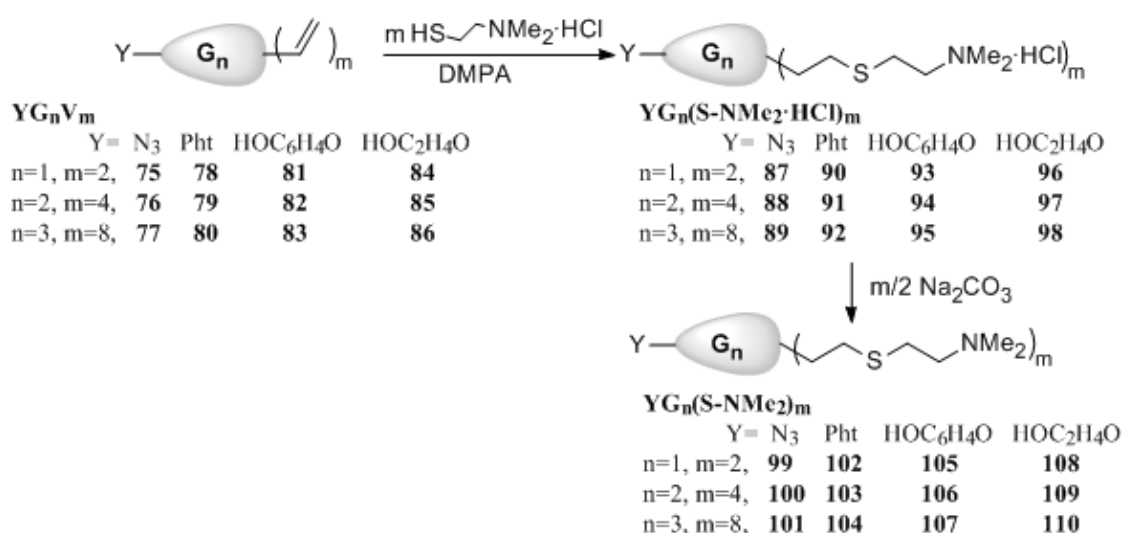
2.5.1.2 Síntesis de $\text{YG}_n(\text{S-NMe}_2)_m$ (99-113)

a) $\text{YG}_n(\text{S-NMe}_2)_m$ ($Y = \text{N}_3^-$, Pht^- , $\text{HOC}_6\text{H}_4\text{O}^-$ o $\text{HOC}_2\text{H}_4\text{O}^-$, 99-110)

Los dendrones YG_nV_m ($n = 1, 2, 3$; $m = 2, 4, 8$ y $X = \text{N}_3$, Pht , $\text{HOC}_6\text{H}_4\text{O}$ ó $\text{HOC}_2\text{H}_4\text{O}$; 75-86) con distintos puntos focales se funcionalizaron por hidrotiolación de manera análoga a los dendrímeros esféricos descritos en el apartado 2.3. Para ello en primer lugar se llevó a cabo la adición del tiol $\text{HSC}_2\text{H}_4\text{NMe}_2 \cdot \text{HCl}$ (1.05 equivalentes por doble enlace a sustituir) en presencia de DMPA (0.1 equivalentes por doble enlace a sustituir), en una mezcla $\text{MeOH}:\text{THF}$ (2:1), durante 4 h bajo luz ultravioleta ($\lambda = 365 \text{ nm}$, Esquema 2.26) obteniéndose los derivados $\text{YG}_n(\text{S-NMe}_2 \cdot \text{HCl})_m$ (87-98) como sólidos blancos o amarillentos con rendimientos de en torno el 75 %, solubles en agua, alcoholes de cadena corta y DMSO.

El disulfuro en exceso no pudo eliminarse en los derivados de primera generación debido a la gran similitud en tamaño, polaridad y solubilidad de los compuestos objeto de nuestro estudio y el derivado disulfuro que aparece como subproducto en la reacción. Sin embargo, estos derivados se sintetizaron con el fin de facilitar la posterior caracterización de los derivados de mayor generación. Por otra parte al tener tan sólo dos grupos terminales no tienen verdadero interés para las aplicaciones que en este trabajo se presentan. Para las generaciones

superiores el exceso de disulfuro se eliminó de los derivados catiónicos con grupos $-\text{NMe}_2\text{H}^+$ periféricos **87-98** mediante nanofiltración o diálisis con una membrana adecuada. Este procedimiento no pudo llevarse a cabo para los derivados $\text{HOC}_2\text{H}_4\text{OG}_n(\text{S-NMe}_2\cdot\text{HCl})_m$ (**97-98**), al no conseguir separar el exceso de disulfuro mediante estas técnicas. Probablemente, ello se deba a la formación de puentes de hidrógeno entre el grupo alcohol del punto focal y el derivado disulfuro, impidiendo que éste atraviese la membrana correspondiente. Por ello en este caso se llevó a cabo la purificación mediante columna cromatográfica de los derivados neutros $\text{HOC}_2\text{H}_4\text{OG}_n(\text{S-NMe}_2)_m$ (**109-110**) posteriormente obtenidos.



Esquema 2.26 Síntesis de dendrones con distintos puntos focales y grupos dimetilamino periféricos.

Los derivados hidroclorados $\text{YG}_n(\text{S-NMe}_2\cdot\text{HCl})_m$ (**87-98**) fueron tratados con una base, Na_2CO_3 , con el fin de obtener los derivados neutros correspondientes con distintos puntos reactivos en el punto focal $\text{YG}_n(\text{S-NMe}_2)_m$ ($n = 1, 2, 3$; $m = 2, 4, 8$; $Y = \text{N}_3, \text{Ph}_t, \text{HOC}_6\text{H}_4\text{O}$ ó $\text{HOC}_2\text{H}_4\text{O}$; **99-110**, Esquema 2.26, Figura 2.48). Estos derivados se obtienen como aceites amarillentos solubles en THF, alcoholes de cadena corta, DMSO y DMF, pero no en agua, con rendimientos de en torno el 85 %.

Ninguna de estas reacciones produce modificaciones en los grupos que se sitúan en el punto focal de estos dendrones tal y como se pudo comprobar mediante las técnicas de caracterización empleadas.

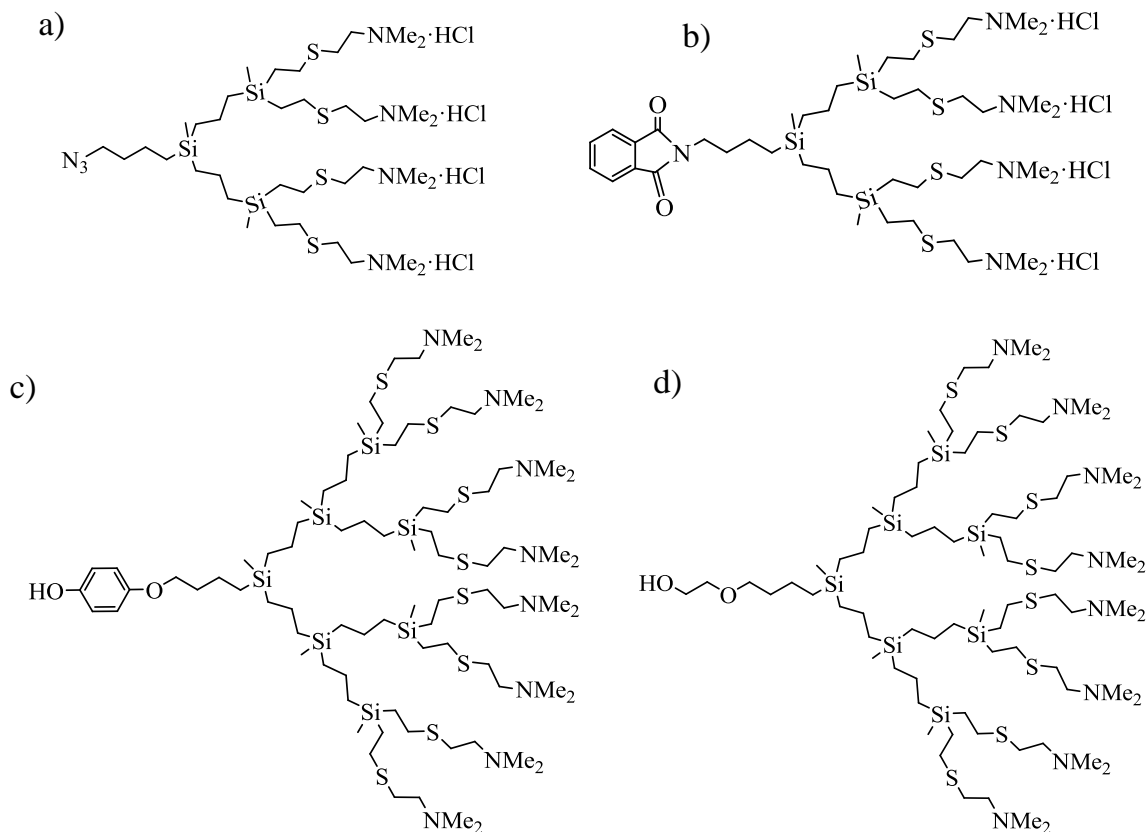
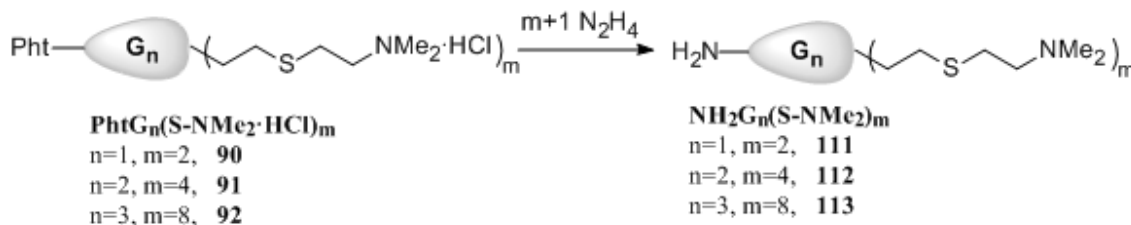


Figura 2.48 Estructura propuesta para los derivados a) $N_3G_2(S-NMe_2 \cdot HCl)_4$ (**88**), b) $PhtG_2(S-NMe_2 \cdot HCl)_4$ (**91**), c) $HOC_6H_4OG_2(S-NMe_2 \cdot HCl)_4$ (**107**) y d) $HOC_2H_4OG_2(S-NMe_2 \cdot HCl)_4$ (**110**).

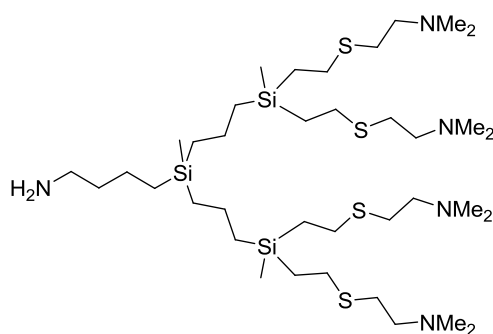
b) $NH_2G_n(S-NMe_2)_m$ (**111-113**)

Los derivados anteriormente descritos poseen, en todos los casos, un grupo funcional que puede resultar interesante para la reactividad posterior de estos dendrones, excepto los compuestos con el grupo ftalimida, que actúa como grupo protector del grupo amino. Dicha desprotección se realizó de la manera habitual en este proceso sintético. Una disolución en MeOH de los derivados $PhtG_n(S-NMe_2 \cdot HCl)_m$ (**90-92**), se calienta a 80 °C durante 16 h en presencia de hidracina (2 equivalentes por cada grupo $-NMe_2 \cdot HCl$ periférico, Esquema 2.27). El carácter básico de la hidracina neutraliza además la periferia dendrítica generando grupos $-NMe_2$, obteniéndose tras purificación los compuestos

$\text{NH}_2\text{G}_n(\text{S-NMe}_2)_m$ ($n = 1, 2, 3$; $m = 2, 4, 8$; **111-113**) como derivados amarillentos estables al aire y solubles en THF, disolventes clorados, DMSO y alcoholes de cadena corta con rendimientos elevados (Figura 2.49).



*Esquema 2.27 Síntesis de los derivados $\text{NH}_2\text{G}_n(\text{S-NMe}_2)_m$ (**111-113**).*



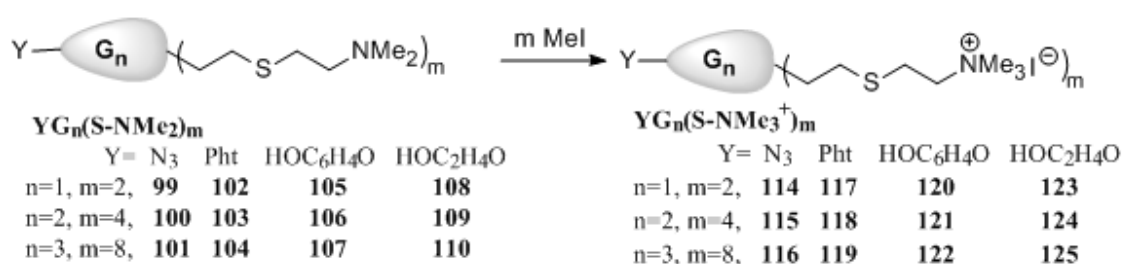
*Figura 2.49 Estructura propuesta para el derivado $\text{NH}_2\text{G}_2(\text{S-NMe}_2)_4$ (**112**).*

2.5.1.3 Síntesis de $\text{YG}_n(\text{S-NMe}_3^+)_m$ (**114-128**)

a) $\text{YG}_n(\text{S-NMe}_3^+)_m$ ($Y = \text{N}_3^-$, Pht- , $\text{HOC}_6\text{H}_4\text{O-}$ o $\text{HOC}_2\text{H}_4\text{O-}$; **114-125)**

Finalmente, para concluir el estudio correspondiente a la síntesis de dendrones con distintos puntos focales, se procedió a la generación de los dendrones análogos a los descritos anteriormente pero con grupos trimetilamonio ($-\text{NMe}_3^+$) periféricos. La razón para preparar estos dendrones catiónicos es, como para los dendrímeros análogos $\text{G}_n\text{Y}(\text{S-NMe}_3^+)_m$ (**43-49**), que los dendrones con grupos $-\text{NMe}_2$ terminales no son solubles, debido al carácter hidrofóbico del esqueleto carbosilano, razón por la que es necesario ionizar estos grupos para solubilizar en agua este tipo de derivados y poder utilizarlos en las aplicaciones objeto de este estudio.

Así, los dendrones $YG_n(S-NMe_3^+)_m$ ($n = 1, 2, 3$; $m = 2, 4, 8$; $Y = N_3, Pht, HOC_6H_4O$ ó HOC_2H_4O ; **114-125**) con distintos puntos focales se obtuvieron por reacción de los precursores $YG_n(S-NMe_2)_m$ ($n = 1, 2, 3$; $m = 2, 4, 8$; $Y = N_3, Pht, HOC_6H_4O$ ó HOC_2H_4O ; **99-110**) con MeI (1.1 equivalentes con respecto al número de grupos $-NMe_2$) de manera análoga a la explicada para los dendrímeros esféricos descritos en el capítulo anterior (Esquema 2.28). Estos derivados se obtienen como sólidos blancos o amarillentos solubles en disolventes polares como H_2O , MeOH o DMSO (Figura 2.50). La primera generación dendrítica es además soluble en disolventes orgánicos clorados.



Esquema 2.28 Síntesis de los dendrones con distintos puntos focales y grupos $-NMe_3^+$ periféricos.

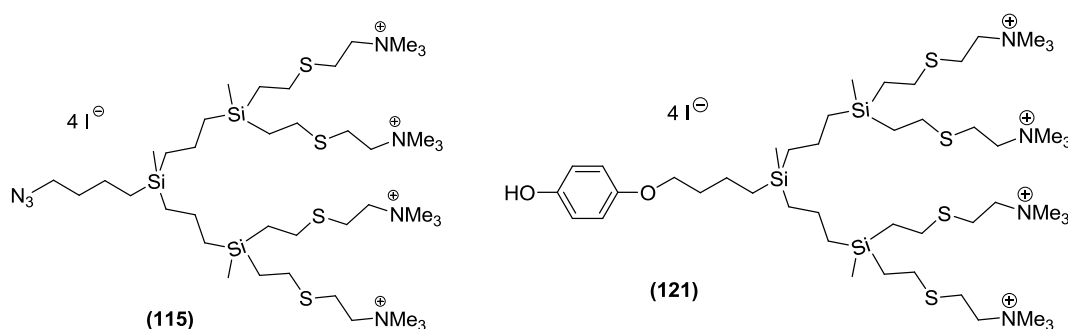
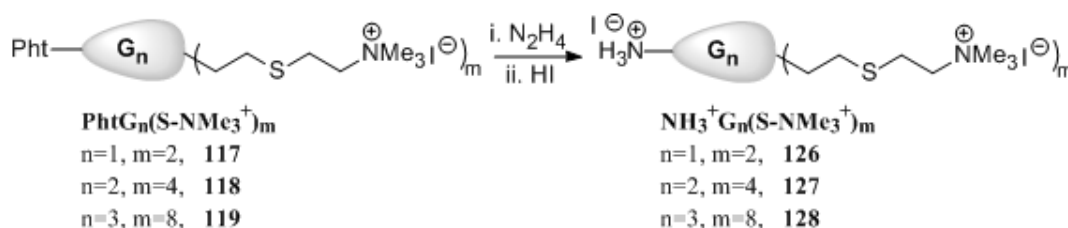


Figura 2.50 Estructura de los derivados $N_3G_2(S-NMe_3^+)_4$ (**115**) y $HOC_6H_4OG_2(S-NMe_3^+)_4$ (**121**).

b) $NH_3^+G_n(S-NMe_3^+)_m$ (**126-128**)

En el caso particular de la síntesis de dendrones con grupos terminales $-NMe_3^+$, la generación del grupo amino primario en el punto focal precisa llevar a cabo la desprotección del grupo ftalimida presente en los precursores $PhtG_n(S-NMe_3^+)_m$ ($n = 1, 2, 3$; $m = 2, 4, 8$; **117-119**). El tratamiento de estos dendrones con 2 equivalentes de N_2H_4 en MeOH: H_2O (20:1) y su posterior purificación

mediante precipitación de las sales de ftalimida con HI, permite la obtención de los derivados $\text{NH}_3^+\text{G}_n(\text{S-NMe}_3^+)_m$, ($n = 1, 2, 3$; $m = 2, 4, 8$; **126-128**) como sólidos de color amarillento o anaranjado con rendimientos en torno al 80 % (Esquema 2.29, Figura 2.51). Estos compuestos son solubles en agua y DMSO, y estables durante periodos moderados de tiempo, ya que la presencia del grupo amonio primario facilita la agregación de dichos derivados. Si bien estos derivados se han caracterizado con un grupo $-\text{NH}_3^+$ en el punto focal, la adición de base origina el grupo $-\text{NH}_2$, permitiendo su utilización en posteriores síntesis.



Esquema 2.29 Obtención de los dendrones $\text{NH}_3^+\text{G}_n(\text{S-NMe}_3^+)_m$ (**126-128**).

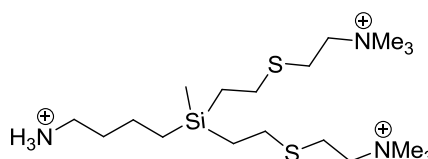


Figura 2.51 Estructura propuesta para el dendrón $\text{NH}_3^+\text{G}_1(\text{S-NMe}_3^+)_2$ (**126**).

2.5.2 Estudio estructural de los dendrones con distintos puntos focales

2.5.2.1 Caracterización de YG_nV_m (**75-86**)

i. Espectroscopía de RMN

La diferencia estructural de los dendrones vinilo YG_nV_m (**75-86**) debida a la presencia de distintos puntos focales (Y) se observa claramente en sus espectros de RMN- ^1H y ^{13}C por la variación en la resonancia correspondiente al grupo metileno **a** (CH_2Y , Figura 2.52) adyacente al punto focal, que inicialmente aparece en los dendrones BrG_nV_m (**15-17**) a 3.4 y 34 ppm en RMN- ^1H y ^{13}C respectivamente (Tabla 2.14, Figura 2.53 y Figura 2.54). También se observa una

variación, aunque menos significativa, para la resonancia del metileno en posición β (**b**) respecto al punto focal.

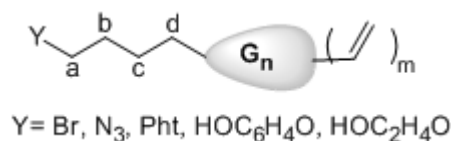


Figura 2.52 Denominación del grupo $-CH_2-$ adyacente al punto focal.

El nuevo desplazamiento del metileno **a** en RMN-¹H se verá principalmente influido por la electronegatividad del nuevo grupo, apareciendo aproximadamente a δ 3.3 en RMN-¹H y 51 en RMN-¹³C para los derivados N₃G_nV_m (**75-77**), a δ 3.6 en RMN-¹H y 38 en RMN-¹³C para los derivados PhtG_nV_m (**78-80**), a δ 3.9 en RMN-¹H y 68 en RMN-¹³C para los derivados HOC₆H₄OG_nV_m (**81-83**) y a δ 3.5 en RMN-¹H y 71 en RMN-¹³C para los derivados HOC₂H₄OG_nV_m (**84-86**, Tabla 2.14, Figura 2.53, Figura 2.54).

		(15)	(75)	(78)	(81)	(84)
RMN- ¹ H	Y-CH ₂ a	3.39	3.32	3.64	3.88	3.47
	Señales grupo Y	-	-	7.68, 7.81	4.65, 6.75	2.24, 3.71, 3.52
RMN- ¹³ C{ ¹ H}	Y-CH ₂ a	33.6	51.0	37.6	68.3	70.9
	Señales grupo Y	-	-	123.1, 132.2, 133.8, 168.4	115.6, 115.9, 149.3, 153.2	61.8 y 71.7

Tabla 2.14 Desplazamiento químico de las señales más representativas en RMN-¹H y ¹³C{¹H} (δ , CDCl₃) para los compuestos de primera generación donde Y = Br (**15**), N₃ (**75**), Pht (**78**), HOC₆H₄O (**81**) ó HOC₂H₄O (**84**).

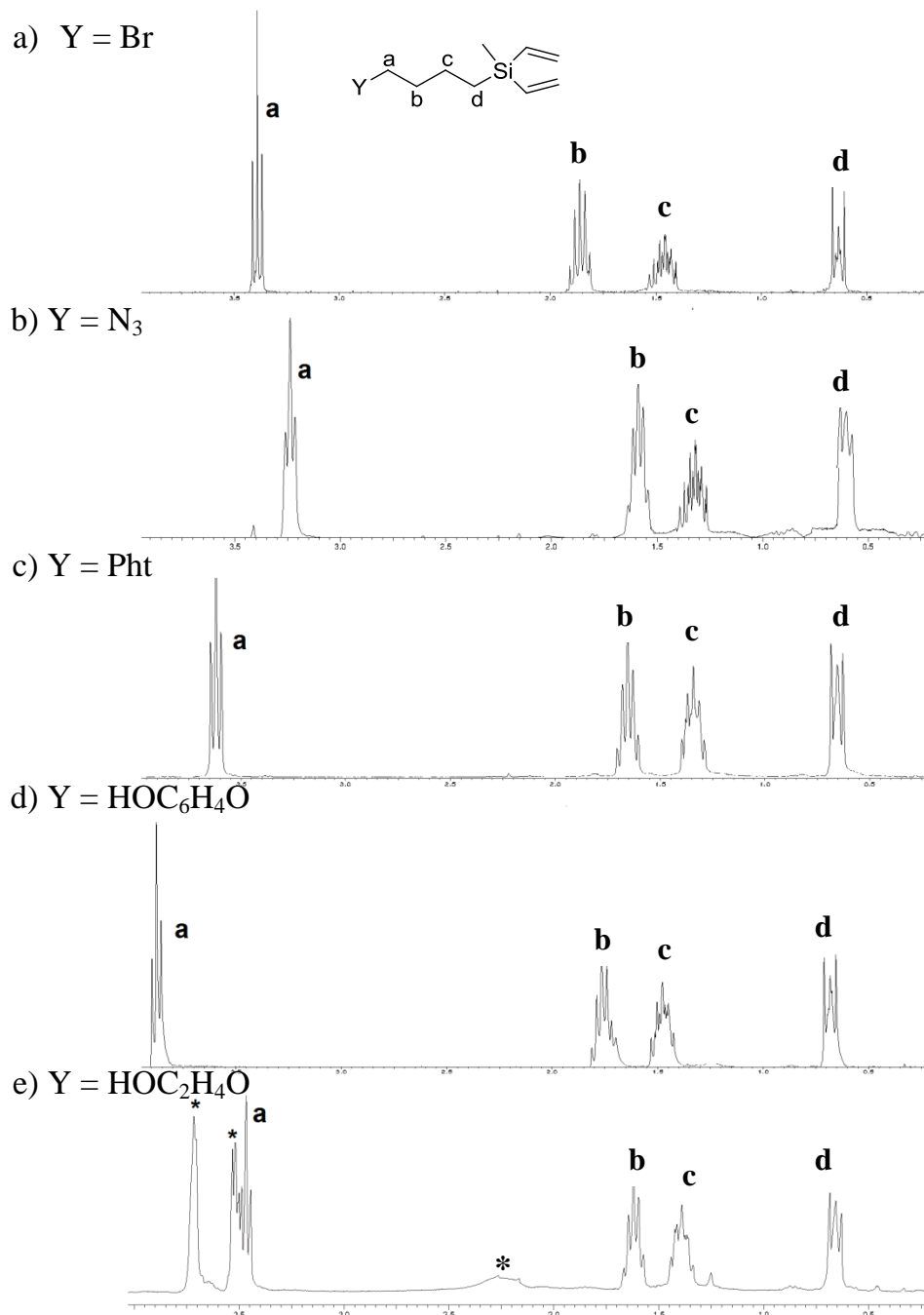


Figura 2.53 Detalle del RMN-¹H (δ, CDCl₃) para a) BrG₁V₂ (**15**), b) N₃G₁V₂ (**75**), c) PhtG₁V₂ (**78**), d) HOC₆H₄OG₁V₂ (**81**) y e) HOC₂H₄OG₁V₂ (**84**). * indica otras señales correspondientes al grupo introducido.

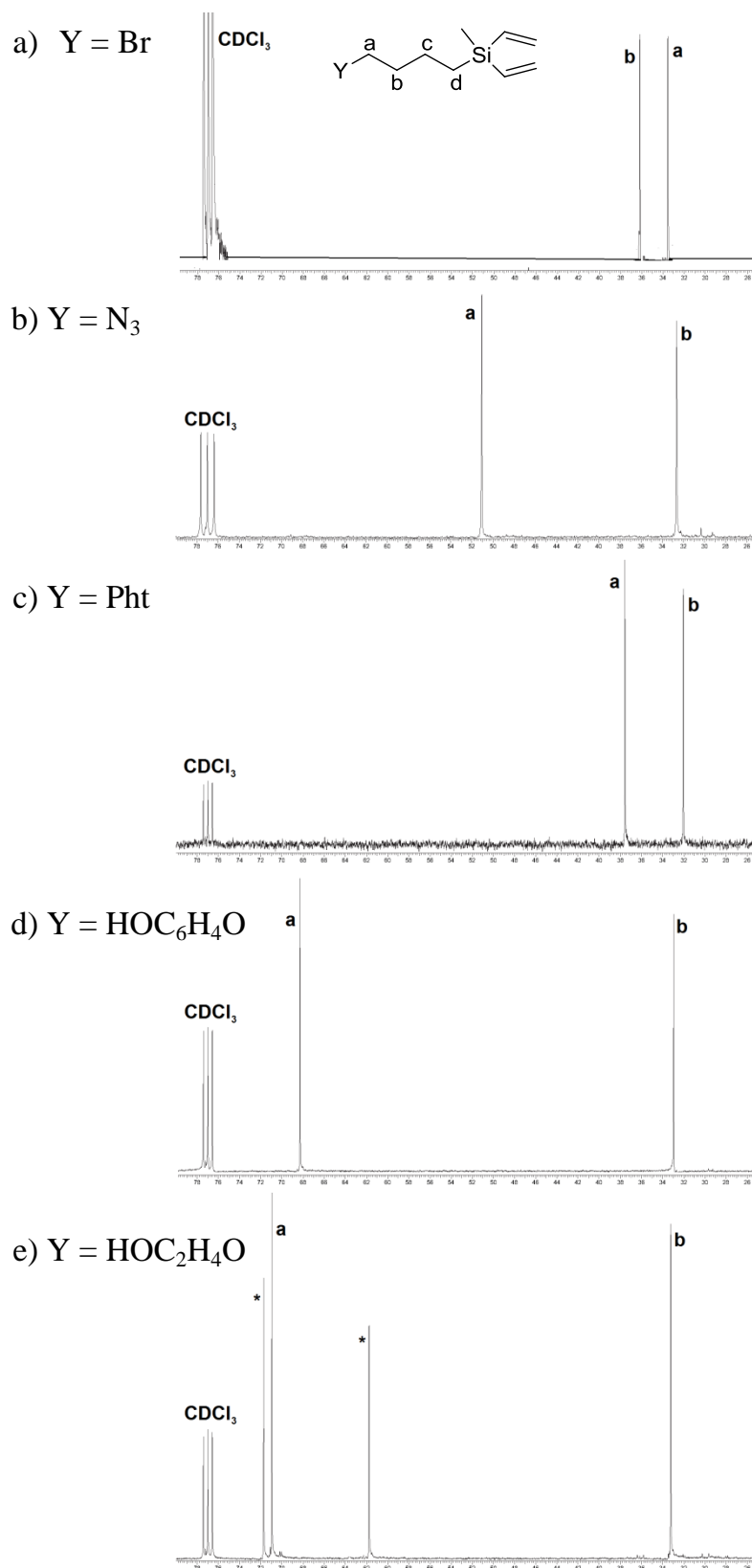


Figura 2.54 Detalle del RMN-¹³C{¹H} (δ , CDCl₃) para a) BrG₁V₂ (**15**), b) N₃G₁V₂ (**75**), c) PhtG₁V₂ (**78**), d) HOC₆H₄OG₁V₂ (**81**) y e) HOC₂H₄OG₁V₂ (**84**). * indica otras señales correspondientes al grupo introducido.

Además, los grupos situados en el punto focal que contienen otros átomos activos en RMN también pueden observarse con esta técnica. Así, para los compuestos $N_3G_nV_m$ (**75-77**) se encuentran las señales correspondientes a los nitrógenos terminales de dicho grupo a -309 y -132 ppm con un experimento HMBC{ 1H - ^{15}N }.

En los compuestos $PhtG_nV_m$ (**78-80**) se observan las señales correspondientes al anillo aromático en RMN- 1H (C_6H_4) a 7.7 y 7.8 ppm, y en RMN- ^{13}C a 123, 137 y 132 ppm, así como la del carbono de tipo carbonilo a 168 ppm. El espectro HMBC{ 1H - ^{15}N } permite encontrar la señal correspondiente al nitrógeno ftalimídico a -217 ppm.

En los derivados $HOC_6H_4OG_nV_m$ (**81-83**) se pueden encontrar en RMN- 1H las señales correspondientes a los protones aromáticos ($C_6H_4O_2$, $C-H$) a 6.8 ppm, así como el singlete ancho correspondiente al hidrógeno $-OH$ a 4.6 ppm. Las señales correspondientes al anillo aromático también se encuentran en RMN- ^{13}C en torno a 116 ppm para los $C-H$ ($C_6H_4O_2$) y a mayores frecuencias, 149 y 153 ppm, para los $C_{ipso}-O$ ($C_6H_4O_2$).

En cuanto a los compuestos derivados del etilenglicol $HOC_2H_4OG_nV_m$ (**84-86**), en espectroscopía de RMN- 1H se observan la señal correspondiente al hidroxilo $-OH$ a 2.2 ppm, así como dos tripletes correspondientes a la cadena OCH_2CH_2O a 3.5 y 3.7 ppm. La cadena alquílica OCH_2CH_2O también puede observarse en el espectro de RMN- ^{13}C en torno a 62 y 72 ppm.

ii. Espectroscopía infrarroja

Los distintos grupos funcionales también pueden ser identificados en los correspondientes espectros de IR. Para los derivados $N_3G_nV_m$ (**75-77**) puede observarse la banda correspondiente al punto focal N_3- a 2094 cm^{-1} (ν_{asim}). En los compuestos $PhtG_nV_m$ (**78-80**) aparecen las señales correspondientes a los grupos carbonilo a 1717 y 1773 cm^{-1} ($\nu_{C=O}$). Para los compuestos $HOC_6H_4OG_nV_m$ (**81-83**) se observan las señales del grupo fenol a 3399 cm^{-1} (ν_{O-H}) así como al anillo

bencénico a 1507 cm^{-1} ($\nu_{\text{Csp}2\text{-Csp}2}$). Finalmente en los compuestos $\text{HOC}_2\text{H}_4\text{OG}_n\text{V}_m$ aparece la señal correspondiente al grupo alcohol a 3429 cm^{-1} ($\nu_{\text{O-H}}$).

Por último, destacar que dichas señales permanecerán presentes en los espectros de infrarrojo del resto de derivados, siempre que los puntos focales no se vean afectados por las posteriores reacciones.

iii. Espectrometría de masas

Los espectros de masas MALDI-TOF muestran los picos correspondientes al ión molecular $[\text{M}+\text{H}]^+$ de los dendrones $\text{N}_3\text{G}_n\text{V}_m$: **75** ($m/z = 196.12\text{ uma}$), **76** ($m/z = 420.29\text{ uma}$) y **77** ($m/z = 869.56\text{ uma}$); PhtG_nV_m : **78** ($m/z = 300.15\text{ uma}$) y **79** ($m/z = 524.3\text{ uma}$); $[\text{M}+\text{Na}]^+$ de los dendrones PhtG_3V_8 : **80** ($m/z = 994.6\text{ uma}$); $\text{HOC}_6\text{H}_4\text{OG}_n\text{V}_m$: **82** ($m/z = 509.27\text{ uma}$) y **83** ($m/z = 957.60\text{ uma}$); $\text{HOC}_2\text{H}_4\text{OG}_n\text{V}_m$: **84** ($m/z = 237.13$), **85** ($m/z = 461.28$) y **86** ($m/z = 909.56$); o $[\text{M}]^+$ del dendrón $\text{HOC}_6\text{H}_4\text{OG}_1\text{V}_2$ **81** ($m/z = 262.1\text{ uma}$).

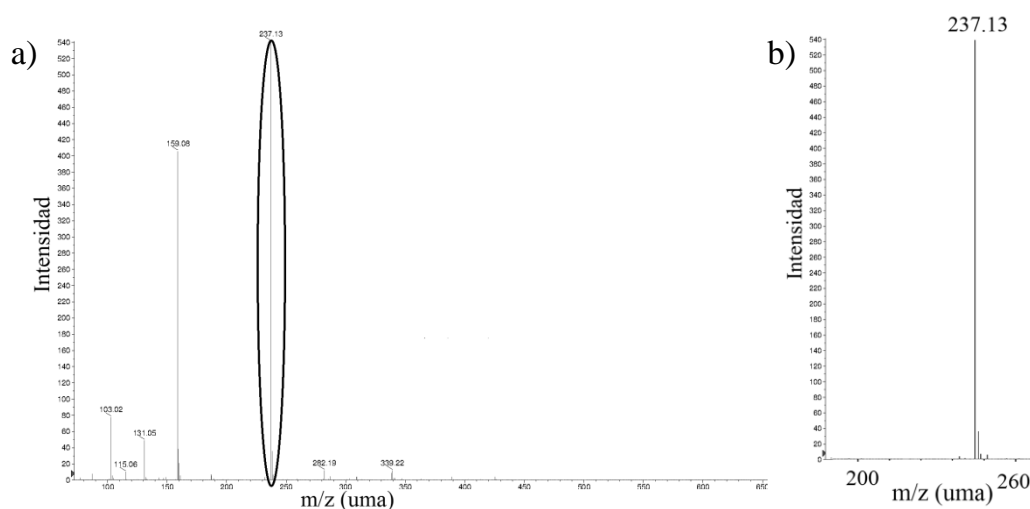


Figura 2.55 a) Espectro de masas de $\text{HOC}_2\text{H}_4\text{OG}_1\text{V}_2$ (**84**) b) Ampliación de su ión $[\text{M}+\text{Na}]^+$.

2.5.2.2 Caracterización de $YG_n(S-NMe_2)_m$ (99-113)

i. Espectroscopía de RMN

a) $YG_n(S-NMe_2 \cdot HCl)_m$ ($Y = N_3, Pht, HOC_6H_4O$ o HOC_2H_4O) (99-110)

En primer lugar, el seguimiento de la reacción de acoplamiento tiol-eno de los precursores YG_nV_m (75-86) por RMN- 1H revela, de manera análoga a lo sucedido con dendrímeros esféricos, la desaparición de los multipletes correspondientes a los grupos vinilo a 5.7 y 6.1 ppm, así como la aparición de la señal correspondiente al grupo metileno $SiCH_2$ de la nueva cadena formada en torno a 0.9 ppm. Además de dicha señal, el espectro de RMN- 1H de los derivados $YG_n(S-NMe_2 \cdot HCl)_m$ (87-98) muestra las resonancias correspondientes al metileno $SiCH_2CH_2S$ en torno a δ 2.6, así como las de la cadena externa $SCH_2CH_2N^+$ a δ 2.9 y 3.2 y de los metilos periféricos $-NMe_2H^+$ a δ 2.7. Dichas señales pueden observarse también en RMN- ^{13}C a δ 14 y 26 para la cadena interna, a δ 24 y 55 para la cadena externa y a δ 41 para los metilos periféricos.

b) $YG_n(S-NMe_2)_m$ ($Y = N_3-, Pht-, HOC_6H_4O-$ o HOC_2H_4O-) (99-110)

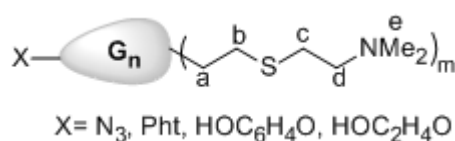


Figura 2.56 Denominación de los carbonos e hidrógenos más representativos tras la funcionalización de dendrones por hidrotiolación.

La desprotonación de los grupos amonio terminales $-NMe_2 \cdot HCl$ con una base adecuada produce un desplazamiento de las señales **d** y **e** cercanas a los grupos nitrógeno a menores frecuencias, tal y como ocurre en los dendrímeros esféricos (apartado 2.3.2.2). Así, en el espectro de RMN- 1H se observa un desplazamiento notable para los protones adyacentes a nitrógeno CH_2NMe_2 , **d** y

e, que se desplazan desde 3.2 y 2.7 a 2.4 y 2.2 ppm respectivamente (Figura 2.57-a). Un desplazamiento similar se observa en RMN- ^{13}C (Figura 2.57-b).

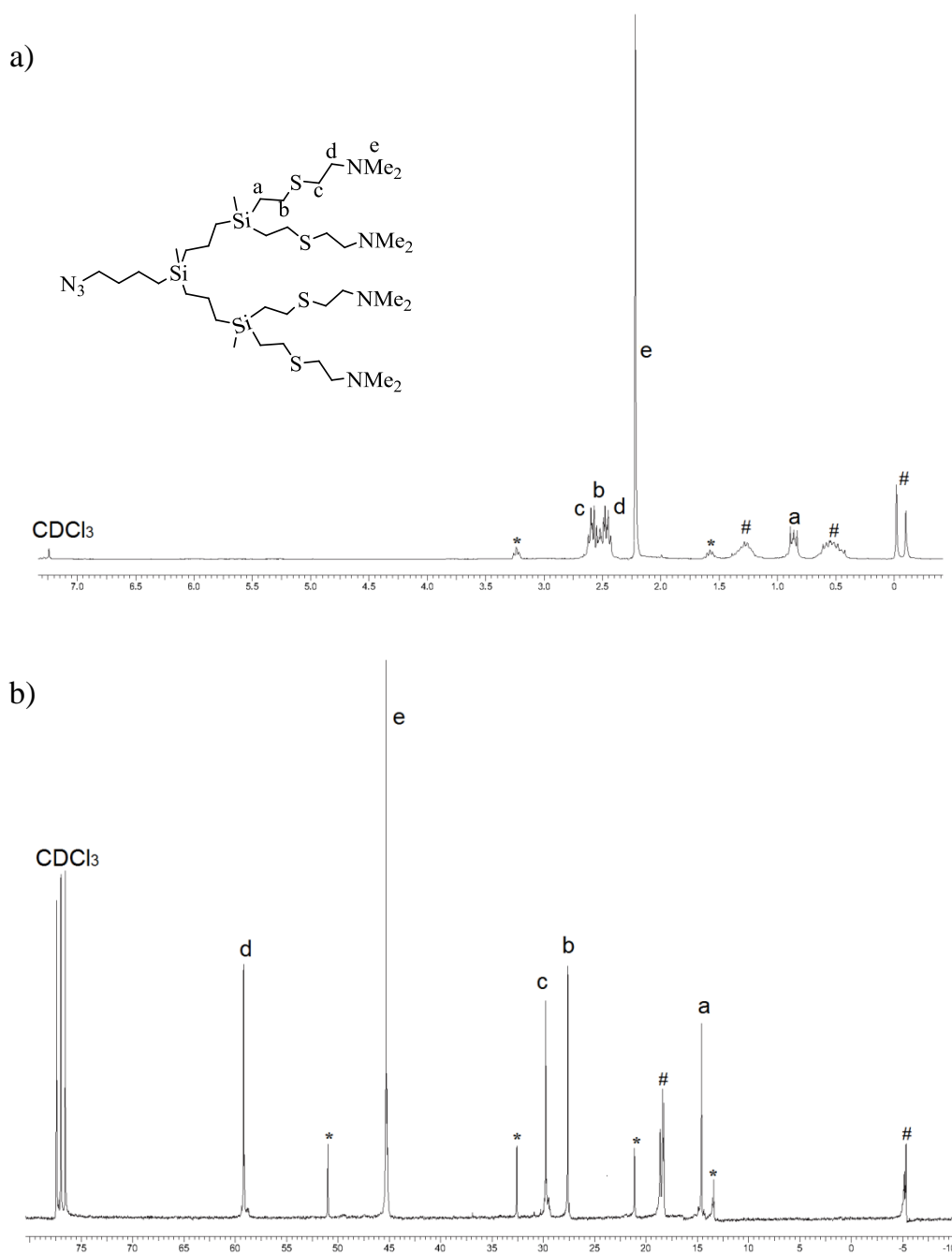


Figura 2.57 Espectros obtenidos para el compuesto $\text{N}_3\text{G}_2(\text{S-NMe}_2)_4$ (**100**) de RMN a) - ^1H b) - $^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ (δ , CDCl_3), # = CBS, * = señales características del punto focal.

Ninguna de las reacciones anteriores, hidrotiolación y neutralización, afectan a los puntos focales presentes en estos dendrones tal y como se comprueba al realizar la caracterización completa de estos derivados. A modo de

ejemplo se muestra el espectro HMBC $\{^1\text{H}-^{15}\text{N}\}$ del compuesto $\text{N}_3\text{G}_1(\text{S-NMe}_2\cdot\text{HCl})_2$ (**87**) donde se puede comprobar que el punto focal azida no se ve alterado por la reacción de adición tiol-eno (Figura 2.58).

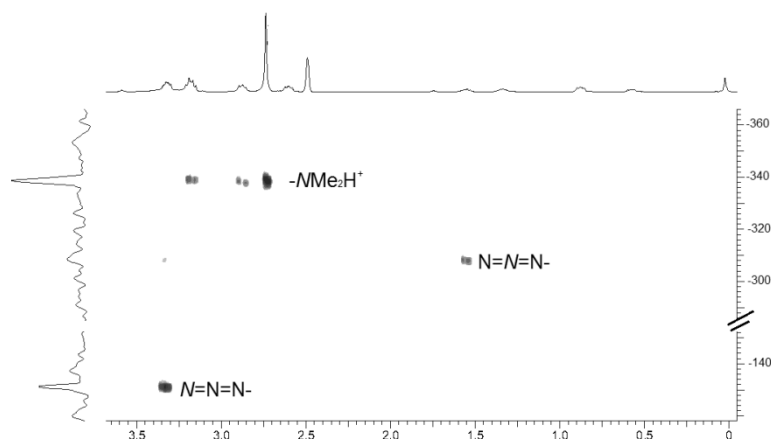


Figura 2.58 HMBC $\{^1\text{H}-^{15}\text{N}\}$ en DMSO del compuesto $\text{N}_3\text{G}_1(\text{S-NMe}_2\cdot\text{HCl})_2$ (**87**).

d) $\text{NH}_2\text{G}_n(\text{S-NMe}_2)_m$ (111-113**)**

La reacción de desprotección del punto focal de los precursores $\text{PhtG}_n(\text{S-NMe}_2\cdot\text{HCl})_m$ ($n = 1, 2, 3$; $m = 2, 4, 8$, **90-92**) con N_2H_4 forma los compuestos neutros con una función NH_2 - en el punto focal $\text{NH}_2\text{G}_n(\text{S-NMe}_2)_m$, (**111-113**).

La sustitución del grupo ftalimida por un grupo amino primario se comprueba por RMN- ^1H por el desplazamiento del triplete correspondiente al grupo metileno del punto focal de en torno 3.6, para PhtCH_2 , a 2.6 ppm, para el grupo NH_2CH_2 , tal y como se puede comprobar mediante experimentos de correlación TOCSY (Figura 2.59-a). En cuanto al espectro de RMN- ^{13}C , se observa el desplazamiento del grupo metileno unido a nitrógeno de en torno a 38 ppm en los compuestos $\text{PhtG}_n(\text{S-NMe}_2\cdot\text{HCl})_m$ (**90-92**) a 42 ppm para los compuestos $\text{NH}_2\text{G}_n(\text{S-NMe}_2)_m$, (**111-113**, Figura 2.59-b). Por otra parte en los espectros de RMN- ^1H , ^{13}C y ^{15}N se observa la desaparición de las señales correspondientes al grupo ftalimida.

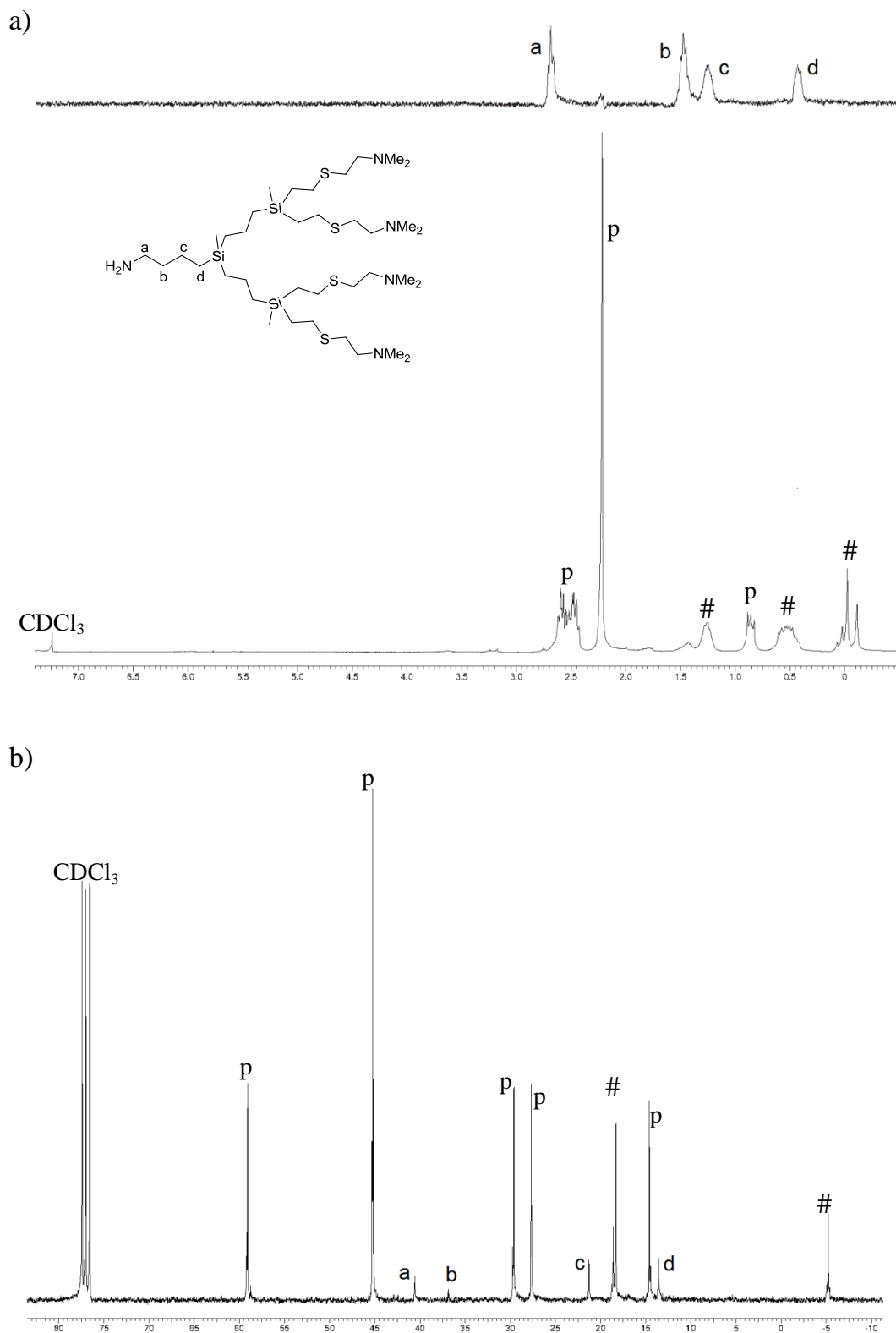


Figura 2.59 Espectro a) TOCSY-1D $\{^1\text{H}-^1\text{H}\}$ y RMN- ^1H (CDCl_3) b) RMN- $^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ (CDCl_3) del compuesto $\text{NH}_2\text{G}_2(\text{S}-\text{NMe}_2)_4$ (**112**), # = CBS, p = señales debidas a la periferia dendrítica.

También, la neutralización de los grupos amonio periféricos genera un desplazamiento en los espectros de RMN-¹H y -¹³C de las señales cercanas a los átomos de nitrógeno de la periferia a menores frecuencias para los derivados NH₂G_n(S-NMe₂)_m (**111-113**) con respecto a los derivados PhtG_n(S-NMe₂·HCl)_m (**90-92**) tal y como cabía esperar.

ii. Espectrometría de masas

Los espectros MALDI-TOF de los derivados neutros YG_n(S-NMe₂)_m muestran, entre otros, los iones moleculares [M+H]⁺ para los dendrones N₃G₁(S-NMe₂)₂: **99** (m/z = 406.2); PhtG₁(S-NMe₂)₂: **102** (m/z = 510.3 uma); HOC₆H₄OG₁(S-NMe₂)₂: **105** (m/z = 473.1 uma); HOC₂H₄OG_nV_m: **108** (m/z = 425.27 uma) y **109** (m/z = 859.6 uma); y NH₂G₂(S-NMe₂)₄: **112** (m/z = 815.5 uma); [M+2H]²⁺ para el dendrón N₃G₂(S-NMe₂)₄: **100** (m/z = 420.76 uma) o [M+Na]⁺ para el dendrón HOC₂H₄OG₃(S-NMe₂)₈: **110** (m/z = 1749.9 uma).

2.5.2.3 Caracterización de YG_n(S-NMe₃⁺)_m (114-128)

i. Espectroscopía de RMN

a) YG_n(S-NMe₃⁺)_m (Y = N₃-, Pht-, HOC₆H₄O- o HOC₂H₄O-) (114-125)

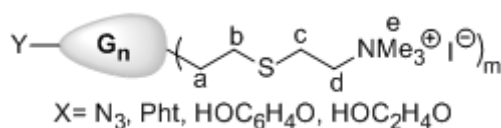


Figura 2.60 Denominación de los carbonos e hidrógenos más representativos de la alquilación de dendrones con grupos -NMe₂ terminales.

El desplazamiento de las señales generado por la cuaternización de los derivados neutros es análogo al anteriormente descrito para dendrímeros esféricos (apartado 2.3.2.3). La formación de las especies YG_n(S-NMe₃⁺)_m conlleva en los espectros de RMN-¹H el desplazamiento de las señales adyacentes al átomo de N (Figura 2.60), a mayores frecuencias, 3.1 (e, -NMe₃⁺) y

3.5 ppm (**d**, CH_2N), además del incremento de la intensidad de la señal **e** ($-\text{NMe}_3^+$, Figura 2.61-a).

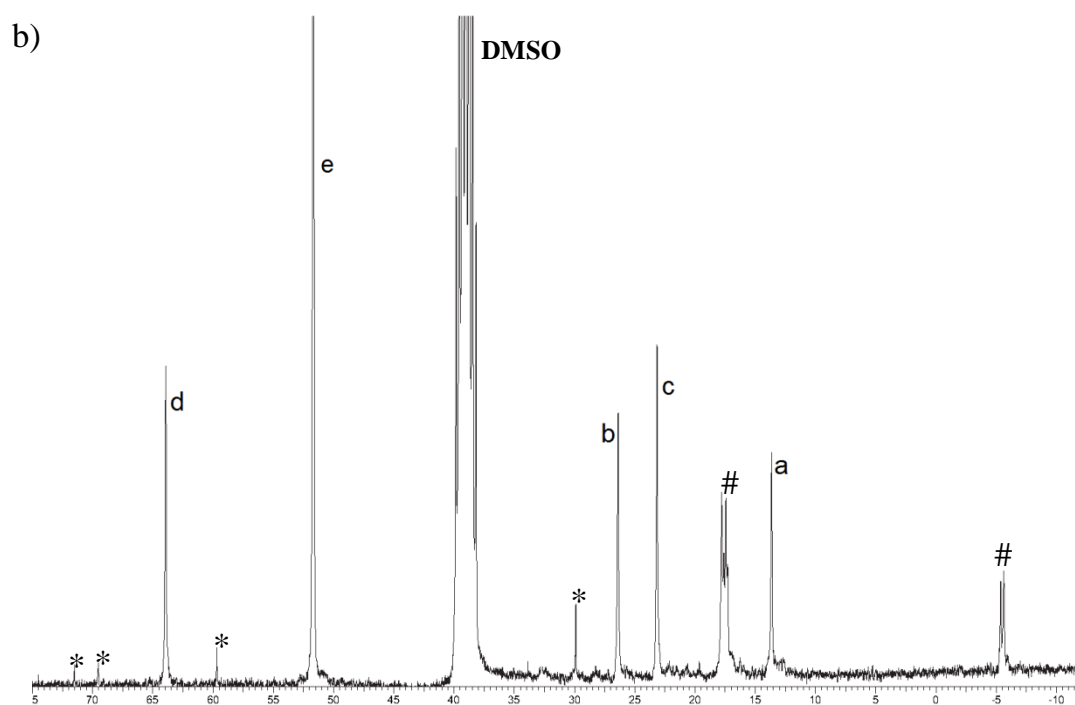
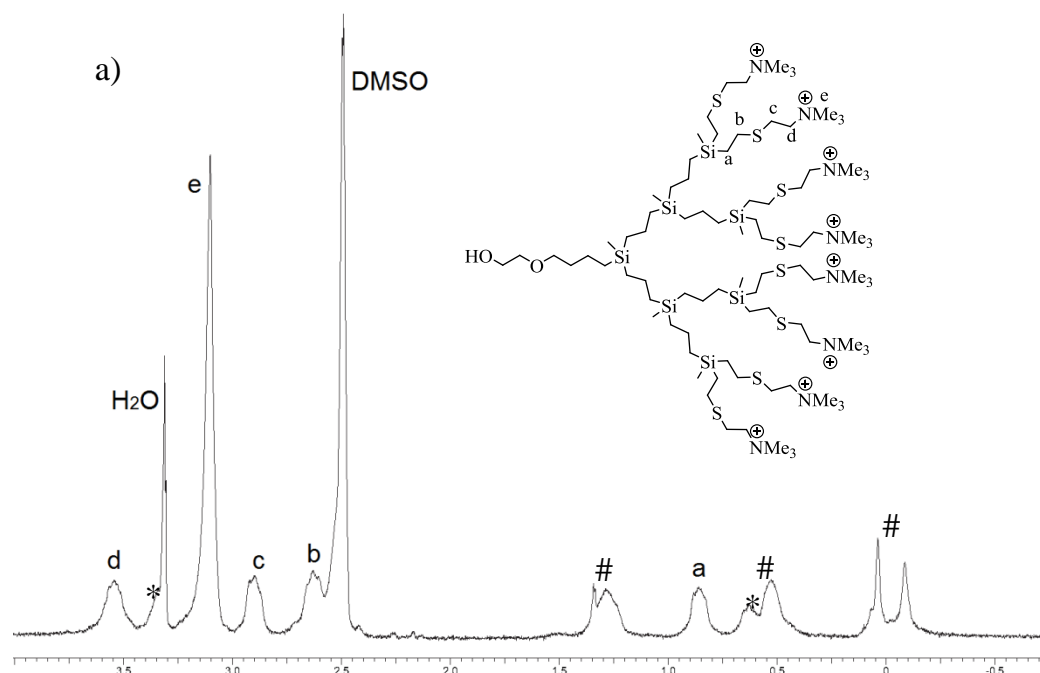


Figura 2.61 Espectro a) $\text{RMN-}^1\text{H}$ ($\text{DMSO-}d_6$) y b) $\text{RMN-}^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ ($\text{DMSO-}d_6$) de $\text{HOC}_2\text{H}_4\text{OG}_3(\text{S-NMe}_3^+)_8$ (**125**), # = CBS, * = señales características del punto focal.

El espectro de RMN- ^{13}C también confirma la transformación ya que las señales de los carbonos adyacentes al átomo de nitrógeno, **d** y **e**, se desplazan a mayores frecuencias (Figura 2.61-b). Finalmente, la señal de nitrógeno en los espectros HMBC{ ^1H - ^{15}N } se desplaza de -352 a -330 ppm aproximadamente debido a la carga positiva del átomo de nitrógeno.

De nuevo los distintos puntos focales no se ven alterados durante el proceso sintético.

b) $\text{NH}_3^+\text{G}_n(\text{S-NMe}_3^+)_m$ (126-128)

La transformación del grupo ftalimida de los compuestos $\text{PhtG}_n(\text{S-NMe}_3^+)_m$ (**117-119**) en $-\text{NH}_3^+$ para originar los derivados $\text{NH}_3^+\text{G}_n(\text{S-NMe}_3^+)_m$ (**126-128**) se comprobó por espectroscopía de RMN- ^1H , ^{13}C y ^{15}N .

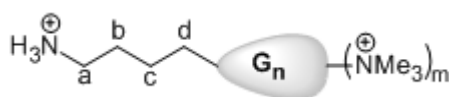


Figura 2.62 Denominación de los carbonos e hidrógenos más representativos de la desprotección de los derivados $\text{PhtG}_n(\text{S-NMe}_3^+)_m$ (**117-119**).

En el espectro de RMN- ^1H se puede observar el desplazamiento de la señal correspondiente al metileno **a** (Figura 2.62) adyacente al punto focal de aproximadamente 3.6 ppm para los derivados $\text{PhtG}_n(\text{S-NMe}_3^+)_m$ (**117-119**) a 2.8 ppm para los derivados $\text{NH}_3^+\text{G}_n(\text{S-NMe}_3^+)_m$ (**126-128**, Figura 2.63). Además de dicho desplazamiento, se puede observar la desaparición de las señales correspondientes al grupo ftalimida y la aparición del singlete ancho correspondiente a los protones unidos al átomo de nitrógeno primario ($-\text{NH}_3^+$) en torno 7.6 ppm (Figura 2.63); permaneciendo inalterado el resto del espectro con respecto al de los precursores $\text{PhtG}_n(\text{S-NMe}_3^+)_m$ (**117-119**).

En cuanto al espectro de RMN- ^{13}C , el cambio más relevante es el desplazamiento de la señal adyacente al átomo de nitrógeno NCH_2 de 36 a 38 ppm (Figura 2.64). Si bien esta señal sólo se pudo observar en el espectro

bidimensional HSQC $\{^1\text{H}-^{13}\text{C}\}$ debido a la coincidencia de la misma con la señal residual del DMSO- d_6 .

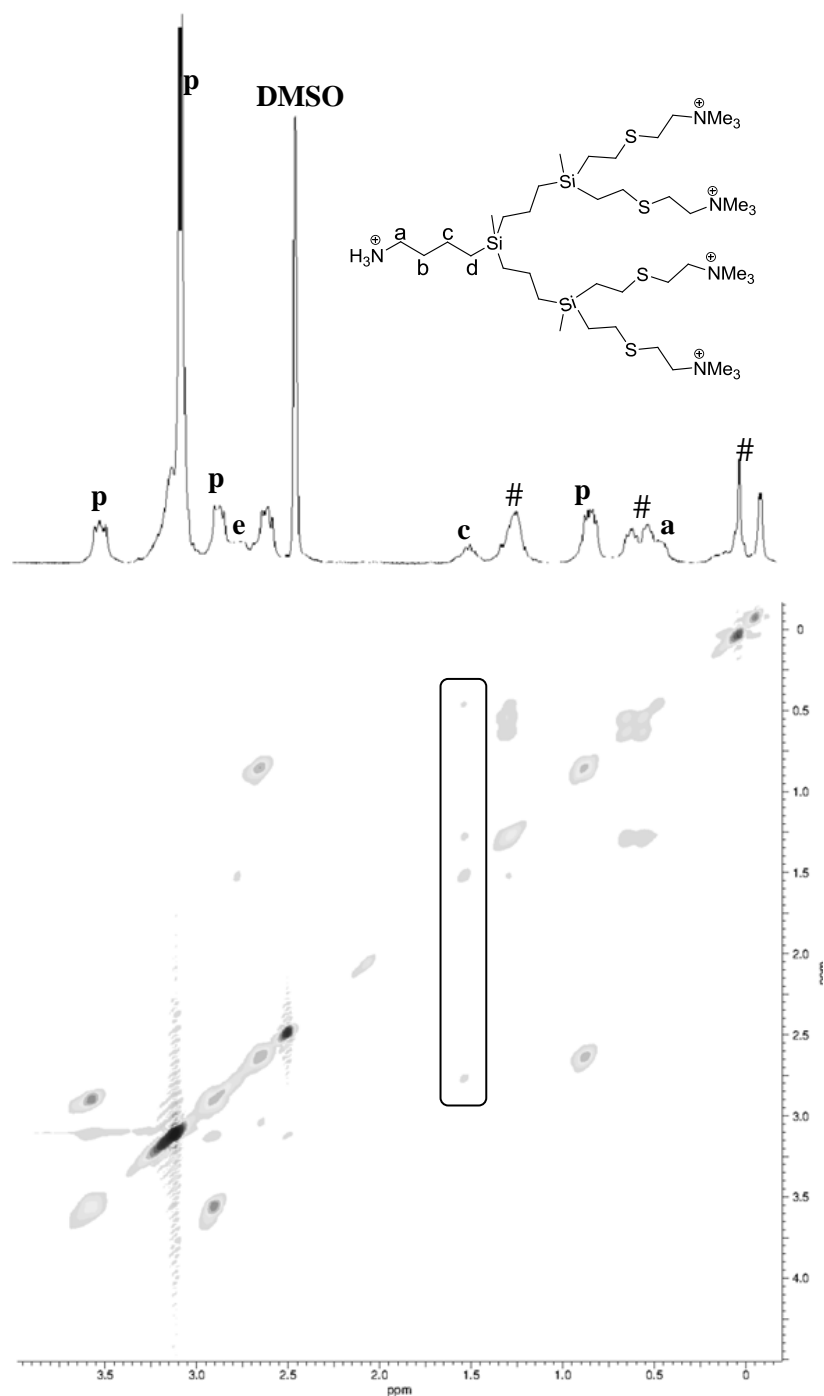


Figura 2.63 Espectro $\text{RMN-}^1\text{H}$ y TOCSY 2D $\{^1\text{H-}^1\text{H}\}$ del compuesto $\text{NH}_3^+\text{G}_2(\text{S-NMe}_3^+)_4$ 127 (δ , DMSO), # = CBS, p = señales correspondientes a la periferia dendrítica. Recuadrada se señala la cadena focal de cuatro eslabones $\text{NH}_3^+(\text{CH}_2)_4\text{Si}$.

En este caso es además relevante el desplazamiento del nitrógeno del punto focal que pasa de -218 para el grupo ftalimida a -346 ppm para el grupo –NH₃⁺ en los derivados NH₃⁺G_n(S-NMe₃⁺)_m (**126-128**), característico de un átomo de nitrógeno tipo amonio.

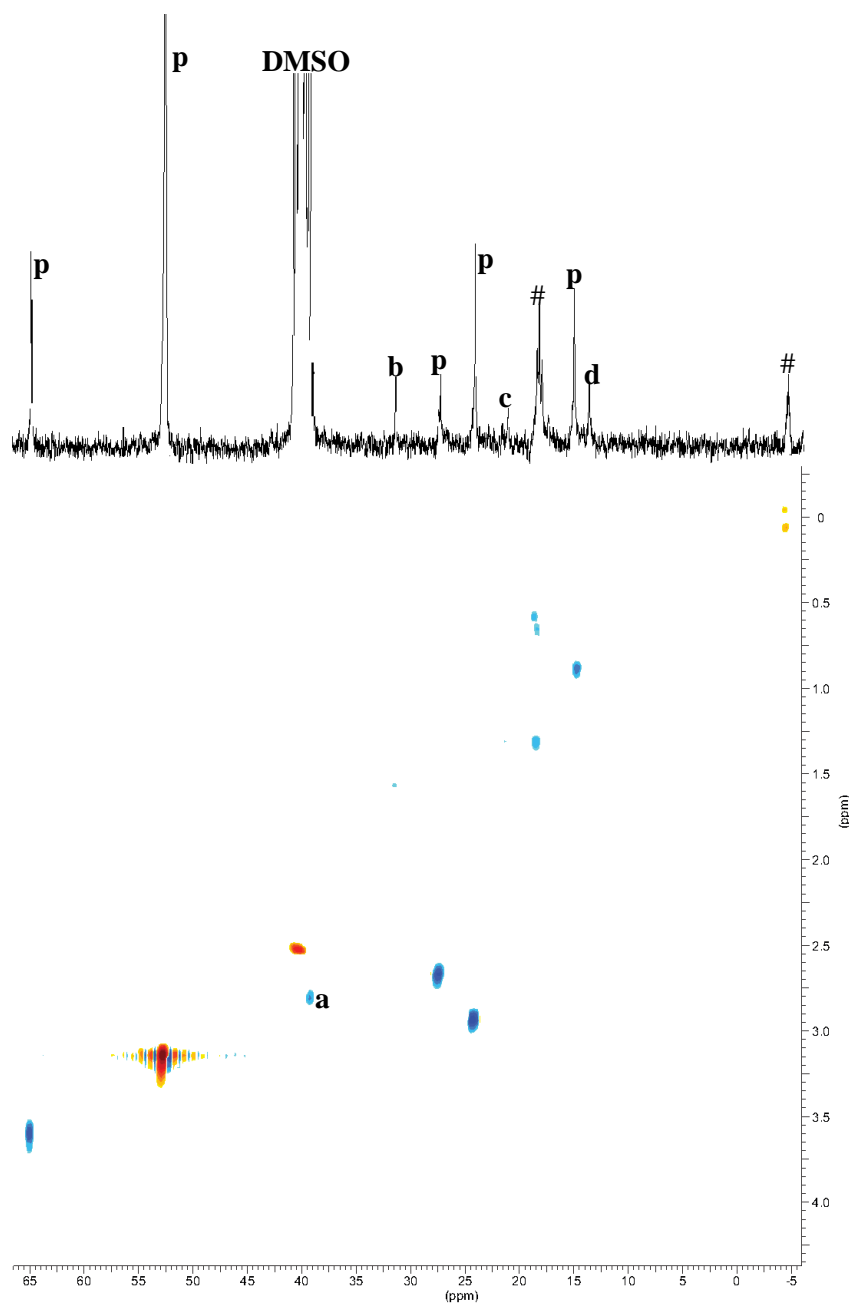


Figura 2.64 Espectro RMN-¹³C y HSQC{¹H-¹³C} del compuesto NH₃⁺G₂(S-NMe₃⁺)₄ **127** (δ, DMSO), # = CBS, p = señales correspondientes a la periferia dendrítica.

ii. Espectrometría de masas

En los espectros de masas ESI de los compuestos $YG_n(S-NMe_3^+)_m$ (**114-128**) se observan iones múltiples cargados correspondientes a las estructuras propuestas donde se han perdido algunos iones yoduro. Así se pueden encontrar los iones $[M-I]^-$ de $N_3G_1(S-NMe_3^+I)_2$: **114** ($m/z = 562.2$ uma); $PhtG_n(S-NMe_3^+I)_m$: **117** ($m/z = 666.3$) y **118** ($m/z = 1384.3$ uma); $HOC_6H_4OG_n(S-NMe_3^+I)_m$: **120** ($m/z = 629.3$ uma) y **121** ($m/z = 1347.3$ uma); $HOC_2H_4OG_n(S-NMe_3^+I)_m$: **123** ($m/z = 581.2$ uma) y **124** ($m/z = 1299.3$ uma); $[M-2I]^{2+}$ de $N_3G_2(S-NMe_3^+I)_4$: **100** ($m/z = 576.71$ uma); $HOC_2H_4OG_3(S-NMe_3^+I)_8$ **125** ($m/z = 1305.3$ uma); $[M-4I]^-$ de $HOC_6H_4OG_3(S-NMe_3^+I)_8$: **122** ($m/z = 600.72$ uma); y $[M-HI-I]^+$ de $NH_3^+G_1(S-NMe_3^+I)_2$: **126** ($m/z = 536.20$ uma).

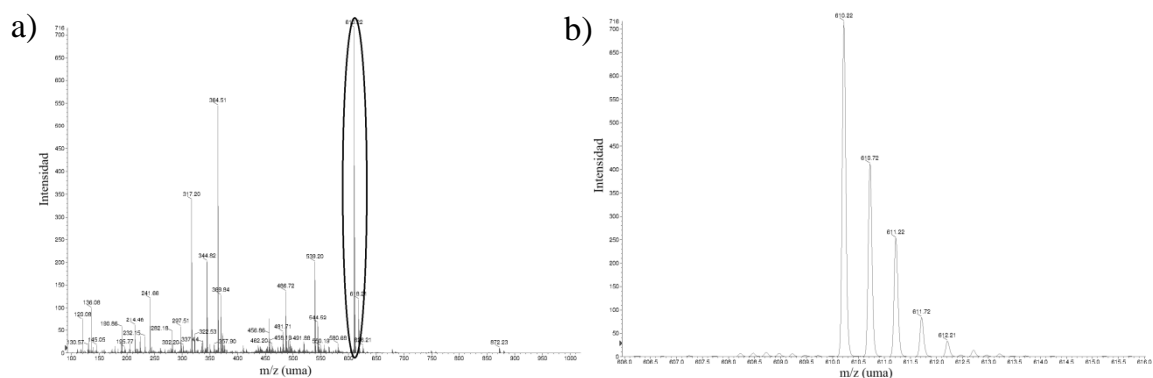


Figura 2.65 a) Espectro de masas de $HOC_6H_4OG_2(S-NMe_3^+)_4$ (**121**) b) Ampliación del pico del ión $[M-2I]^{2+}$.

2.6 Unión de moléculas de interés biomédico a dendrones carbosilano

Como ya se ha comentado a lo largo del presente capítulo, la característica más importante de los dendrones es que permiten la bifuncionalización de manera precisa, sin acudir a métodos estadísticos como los tratados en el apartado 2.4.

En el apartado 2.5 de la presente memoria se ha explorado la generación de dendrones de tipo carbosilano con un punto focal bien diferenciado de la periferia con el fin de poder utilizar estos compuestos como moléculas independientes o como moléculas útiles para su anclaje a otras moléculas o materiales.

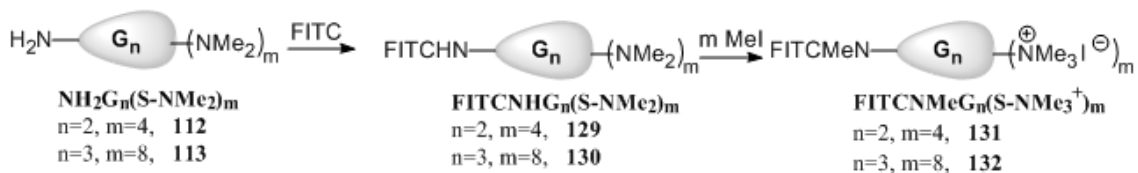
En esta sección, de manera análoga a los dendrímeros, nos propusimos la unión de algunas moléculas que pudiesen mejorar los efectos biológicos deseados para los derivados dendríticos aquí presentados. Por ello, se llevó a cabo la unión de: i. un derivado fluorescente que permite la realización de estudios de biodistribución *in vivo* de este tipo de derivados o hacer estudios de internalización celular (fluoresceína); ii. un antiinflamatorio que permite combinar la capacidad antiinflamatoria del mismo con las características de estos dendrones en el transporte de material nucleico o como agentes antibacterianos (ibuprofeno); y iii. un antibiótico con el fin de evaluar el efecto conjugado de actividad antibacteriana entre dendrímero y el mismo (penicilina V). En estos dos últimos casos, además, la unión se hizo a través de un enlace lábil tipo éster con el fin de favorecer la liberación de ambos fármacos en presencia de esterasas, favoreciendo de esta forma que puedan desarrollar su acción.

2.6.1 Estudio preparativo de dendrones con fluoresceína en el punto focal

2.6.1.1 Síntesis de FITCNMeG_n(S-NMe₃⁺)_m (131-132)

Los dendrones fluoresceinados se obtuvieron de manera similar a los dendrímeros análogos descritos en el apartado 2.4.1.2 mediante reacción directa de los precursores NH₂G_n(S-NMe₂)_m (**112-113**) con isotiocianato de fluoresceína en DMF y posterior alquilación, sin aislar los derivados **112-113**, de los grupos amino con MeI (Esquema 2.30). De esta manera se obtuvieron los derivados (FITCNMe)G_n(S-NMe₃⁺)_m (n = 2, 3; m = 4, 8, **131-132**) como sólidos de color amarillo o anaranjado solubles en agua, pero no en compuestos poco polares o alcoholes, con rendimientos de en torno al 70 %. Se realizó la reacción tan sólo con los dendrones de mayor generación por considerarse que los derivados de primera generación presentan poco interés biomédico debido a su pequeño tamaño.

Los dendrones así obtenidos (Figura 2.66) presentan una estructura con los mismos grupos funcionales que los dendrímeros G_nO₃(NMeFITC)(S-NMe₃⁺)_{m-1}, (**66-69**), produciéndose también en este caso, la metilación del átomo de nitrógeno no conjugado del grupo tiourea. Además, en este caso la funcionalización realizada a través de esta estrategia supone la obtención de moléculas dendríticas bien definidas estructuralmente.



Esquema 2.30 Síntesis de los dendrones fluoresceinados FITCNMeG_n(S-NMe₃⁺)_m (**131** y **132**).

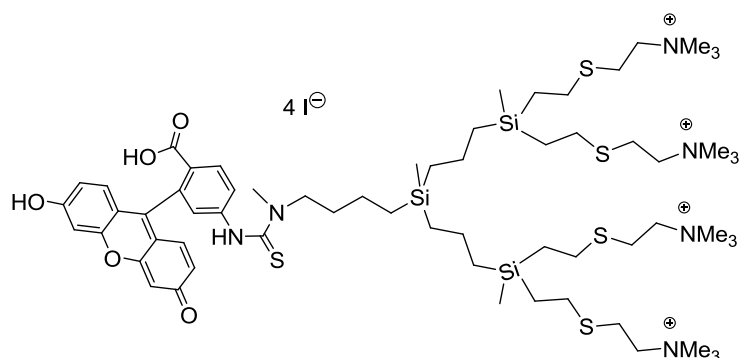


Figura 2.66 Estructura del compuesto **131**, $\text{FITCNMeG}_2(\text{S-NMe}_3^+)_4$.

2.6.2 Estudio estructural de dendrones con fluoresceína en el punto focal

2.6.2.1 Caracterización de $\text{FITCNMeG}_n(\text{S-NMe}_3^+)_m$ (131-132)

El seguimiento de la reacción de adición de la fluoresceína a los grupos amino primarios se puede realizar mediante un test de Kaiser que permite corroborar la desaparición de dichos grupos amino primarios presentes en los precursores $\text{NH}_2\text{G}_n(\text{S-NMe}_2)_{m-1}$ (**112-113**).

i. Espectroscopía de RMN

En cuanto a la $\text{RMN-}^1\text{H}$, de manera análoga a lo descrito para los dendrímeros $\text{G}_n\text{O}_3(\text{NMeFITC})(\text{S-NMe}_3^+)_{m-1}$, ($n = 1, 2, 3, 4$; $m = 6, 12, 24, 48$; **66-69**), se observan dos grupos de señales, las correspondientes a la estructura carbosilano inicial, y otra región, en torno a 6.5 ppm en la que aparecen las señales correspondientes a la fluoresceína. Por ello, una manera sencilla de corroborar la unión de estas moléculas es utilizar un experimento de difusión DOSY-2D en el que se observa la difusión conjunta de las señales correspondientes a la parte del dendrímero y de aquellas nuevas pertenecientes al fragmento fluoresceína (Figura 2.67). En este caso es también posible identificar la señal del metileno FITCNMeCH_2 en $\text{RMN-}^1\text{H}$ mediante la utilización de un experimento TOCSY que permite observar el desplazamiento de la misma desde

aproximadamente 2.6 ppm en los precursores $\text{NH}_2\text{G}_n(\text{S-NMe}_2)_{m-1}$ (**112** y **113**) a 3.3 ppm en los compuestos $\text{FITCNMeG}_n(\text{S-NMe}_3^+)_{m-1}$ (**131-132**).

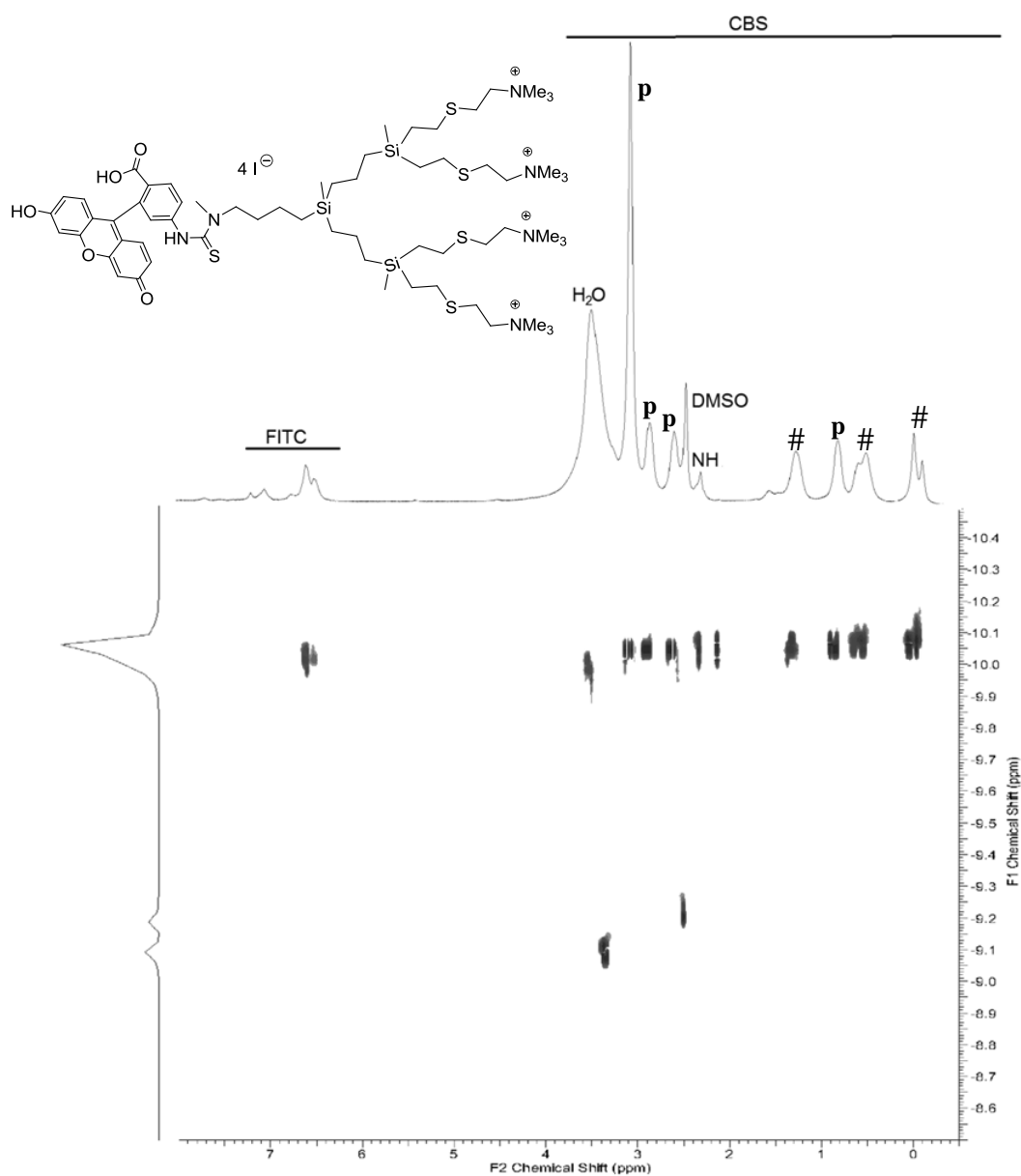


Figura 2.67 Espectro $\text{RMN-}^1\text{H}$ y DOSY 2D del compuesto $\text{FITCNMeG}_2(\text{S-NMe}_3^+)_{m-1}$ (**131**; δ , DMSO-d_6), # = CBS, p = señales correspondientes a la periferia dendrítica.

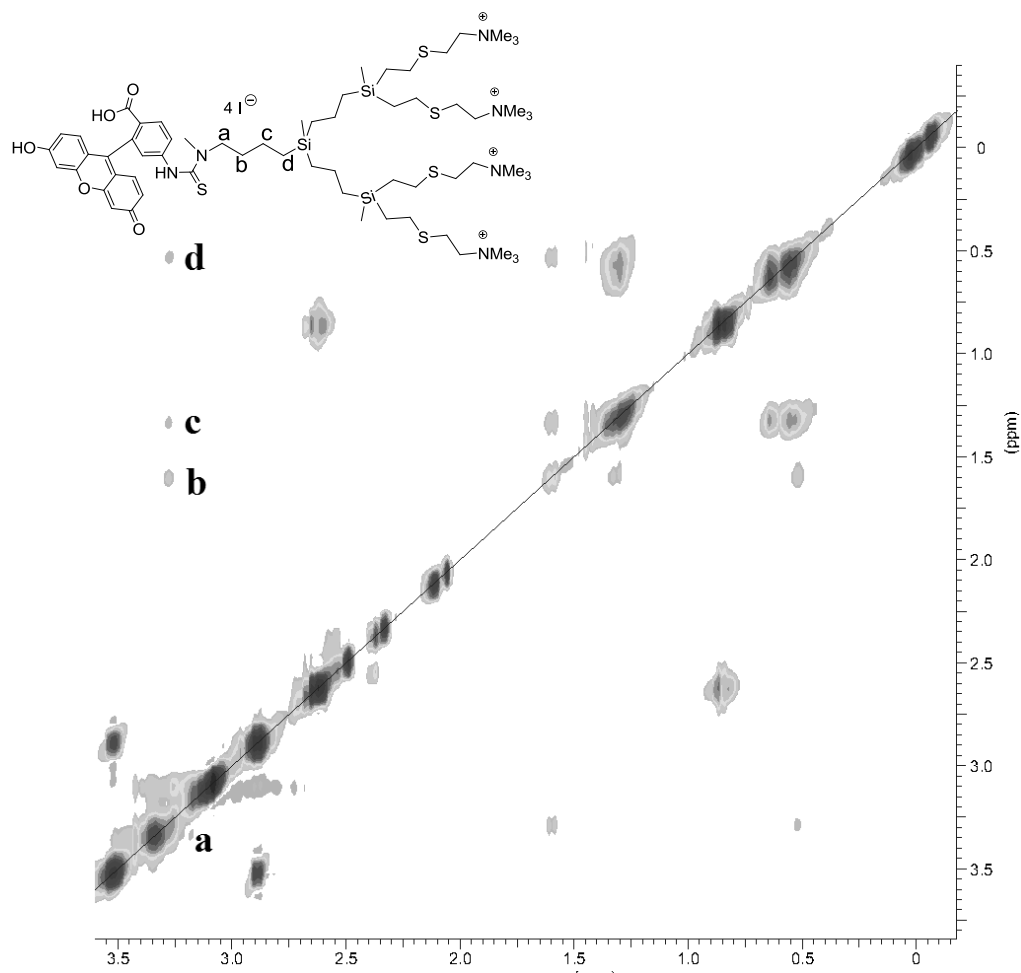


Figura 2.68 TOCSY $\{^1\text{H}-^1\text{H}\}$ del compuesto FITCNMeG₂(S-NMe₃⁺)₄ (**131**; δ , DMSO-*d*₆). Recuadrada se muestra la cadena de cuatro eslabones FITCNMeCH₂CH₂CH₂CH₂Si.

ii. Espectroscopía infrarroja

Como en el caso de los dendrímeros esféricos G_nO₃(NMeFITC)(S-NMe₃⁺)_{m-1} (**66-69**), la espectroscopía infrarroja resultó útil para seguir la evolución de la reacción ya que permitía observar la desaparición de la banda correspondiente al grupo isotiocianato de la fluoresceína libre (2034 cm⁻¹) así como la aparición de la frecuencia de tensión correspondiente al grupo carbonilo del grupo ácido (1752 cm⁻¹, Figura 2.69).

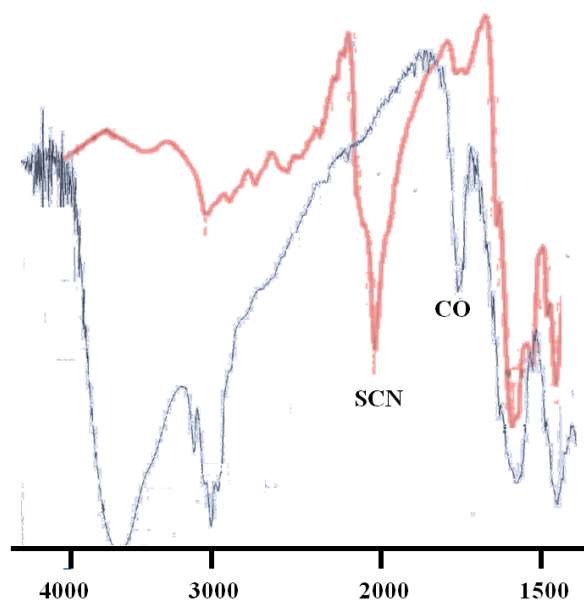


Figura 2.69 IR de FITC (rojo) y FITCNMeG₃(S-NMe₃⁺)₈ (**132**; azul).

iii. Espectroscopía ultravioleta-visible

La espectroscopía UV-Vis permite observar las bandas características de la fluoresceína para los compuestos FITCNMeG_n(S-NMe₃⁺)_m (n = 2, 4; m = 4, 8, **131-132**) en torno a 500 nm (Figura 2.70).

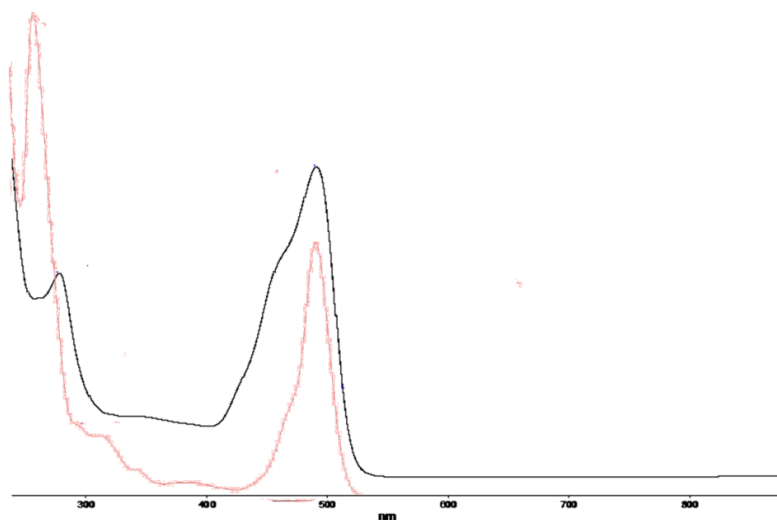


Figura 2 70 Espectros UV-Vis para FITCNMeG₃(S-NMe₃⁺)₈ (**132**; rojo) e isotiocianato de fluoresceína (FITC, negro).

iv. Espectrometría de masas

El espectro de masas del derivado fluoresceinado de segunda generación FITCNMeG₂(S-NMe₃⁺I)₄ (**131**) muestra el ión molecular [M-2I]²⁺ a m/z = 765.2 uma (Figura 2.71).

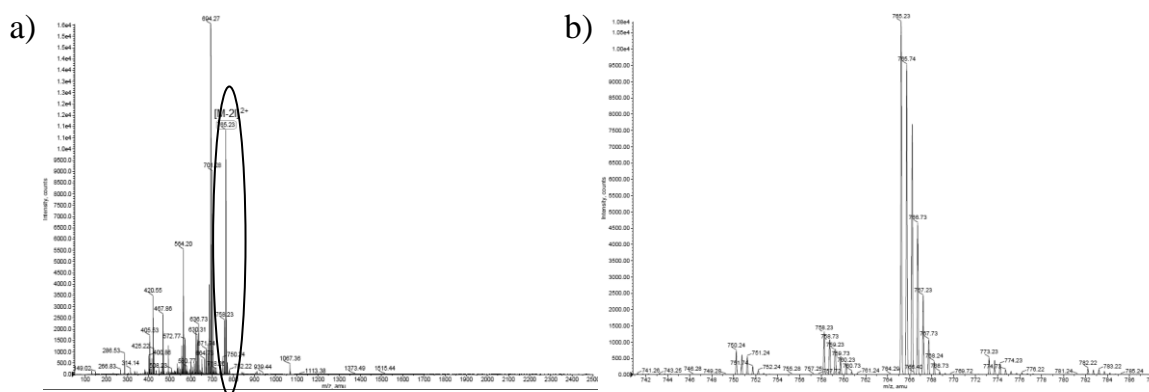


Figura 2.71 a) Espectro de masas para el derivado FITCNMeG₂(S-NMe₃⁺)₄ (**131**) y b) ampliación del pico de su ión [M-2I]²⁺.

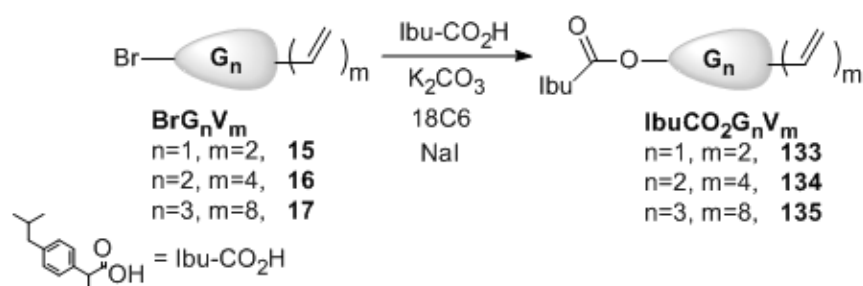
2.6.3 Estudio preparativo de los dendrones que contienen ibuprofeno en el punto focal

2.6.3.1 Síntesis de IbuCO₂G_nV_m (133-135)

Como se ha descrito en el apartado 2.4.3, la obtención del dendrímero esférico con grupos amonio -NMe₃⁺ y un grupo ibuprofeno G₂O₃(OCOibu)(S-NMe₃⁺)₁₁ (**74**) se hizo a través de un proceso de esterificación que requiere el uso de agentes acoplantes, que tuvieron que ser posteriormente eliminados del medio de reacción (apartado 2.4.3.2). Con el fin de simplificar la síntesis y la purificación, realizamos la unión de ibuprofeno por sustitución nucleófila en la cuñas que contienen bromo en el punto focal BrG_nV_m (n = 1, 2, 3; m = 2, 4, 8; **15-17**), de forma similar a como se introdujeron los distintos puntos focales para los dendrones YG_nV_m (**75-86**, apartado 2.5.1.1) y haciendo uso para ello del grupo ácido del ibuprofeno.

La reacción de BrG_nV_m (**15-17**) con ibuprofeno se realiza en presencia de K₂CO₃ (2 equivalentes), éter corona (0.1 equivalentes) y NaI en cantidades

catalíticas, calentando en DMF a 80 °C en una ampolla con llave de teflón durante una noche. Tras purificación se obtienen los derivados $\text{IbuCO}_2\text{G}_n\text{V}_m$ ($n = 1, 2, 3$; $m = 4, 8, 16$; **133-135**), como aceites de color amarillento solubles en disolventes clorados y orgánicos de uso común con rendimientos superiores al 90 % (Esquema 2.31, Figura 2.72). Con este procedimiento el exceso de ibuprofeno es además fácilmente eliminable por extracción fase orgánica-fase acuosa, al quedarse en la fase acuosa como derivado carboxilato debido al exceso de base empleado.



Esquema 2.31 Síntesis de los dendrones $\text{IbuCO}_2\text{G}_n\text{V}_m$ (**133-135**).

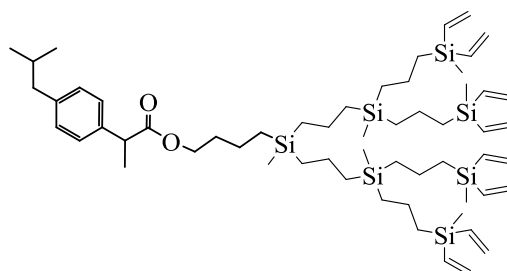
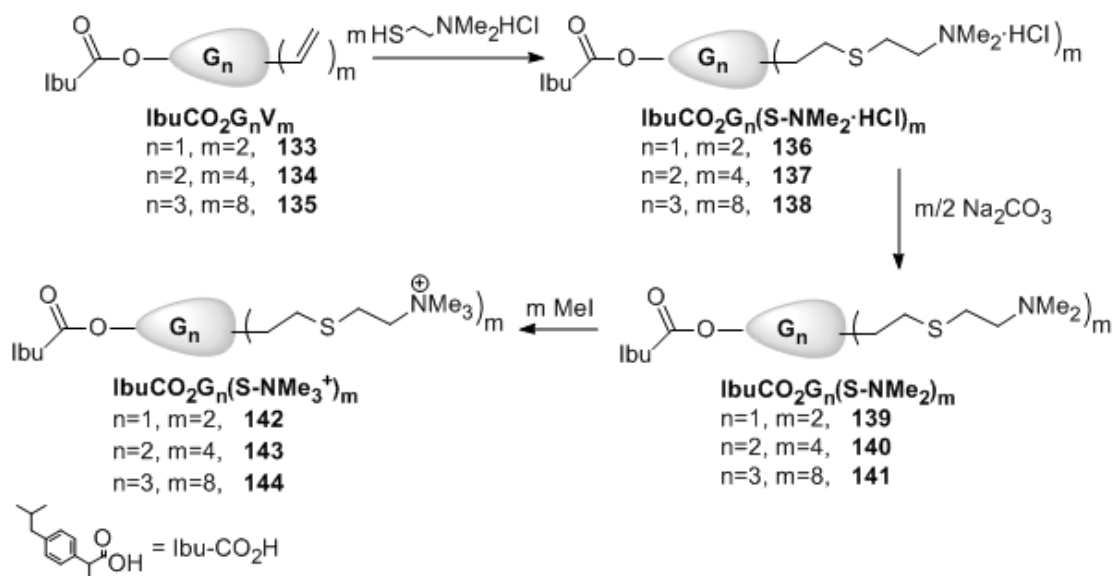


Figura 2.72 Estructura de $\text{IbuCO}_2\text{G}_3\text{V}_8$ (**135**).

2.6.3.2 Síntesis de $\text{IbuCO}_2\text{G}_n(\text{S-NMe}_3^+)_m$ (**142-144**)

Una vez obtenidos los dendrones con ibuprofeno en el punto focal y grupos vinilo periféricos **133-135** se realizó la funcionalización de la periferia dendrítica por hidrotiolación con $\text{HSCH}_2\text{CH}_2\text{NMe}_2\cdot\text{HCl}$ (1.05 equivalentes por doble enlace a sustituir) haciendo uso de luz ultravioleta en presencia de DMPA (Esquema 2.32), de forma similar a la descrita para dendrímeros y dendrones, obteniéndose los compuestos $\text{IbuCO}_2\text{G}_n(\text{S-NMe}_2\cdot\text{HCl})_m$ ($n = 1, 2, 3$; $m = 4, 8, 16$, **136-138**).

Con el fin de obtener los derivados con grupos $-\text{NMe}_3^+$ periféricos, los derivados $\text{IbuCO}_2\text{G}_n(\text{S-NMe}_2\cdot\text{HCl})_m$ (**136-138**) fueron en primer lugar neutralizados con una base y posteriormente cuaternizados en presencia de un ligero exceso de MeI, pudiéndose obtener finalmente los derivados con ibuprofeno en el punto focal unido por un enlace éster a un dendrón carbosilano con grupos amonio $-\text{NMe}_3^+$ periféricos, $\text{IbuCO}_2\text{G}_n(\text{S-NMe}_3^+)_m$ (**142-144**, $n = 1, 2, 3$; $m = 2, 4, 8$), como sólidos amarillos solubles en agua, DMSO o alcoholes de cadena corta (Esquema 2.32, Figura 2.73).



Esquema 2.32 Síntesis de los dendrones **133-144** con ibuprofeno en el punto focal.

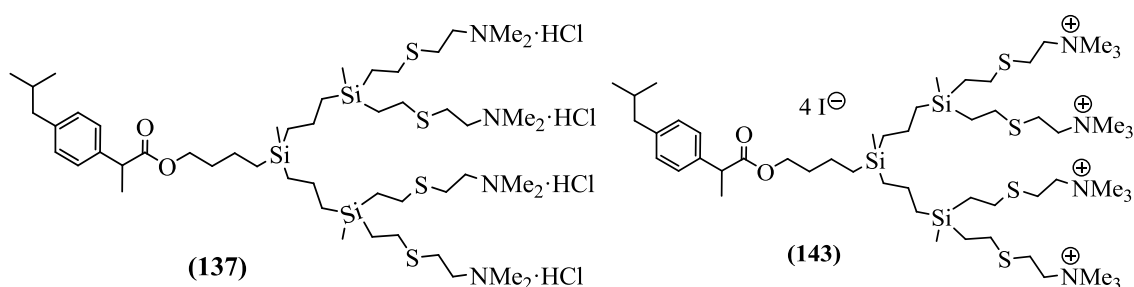


Figura 2.73 Estructura de los derivados $\text{IbuCO}_2\text{G}_2(\text{S-NMe}_2\cdot\text{HCl})_4$ (**137**) y $\text{IbuCO}_2\text{G}_2(\text{S-NMe}_3^+)_4$ (**143**).

2.6.4 Estudio estructural de los dendrones que contienen ibuprofeno en el punto focal

2.6.4.1 Caracterización de $IbuCO_2G_nV_m$ (133-135)

i. Espectroscopía de RMN

La sustitución del átomo de bromo en los dendrones BrG_nV_m ($n = 1, 2, 3$; $m = 2, 4, 8$, **15-17**) por el fragmento ibuprofeno se puede seguir fácilmente por el desplazamiento de la resonancia correspondiente al metileno adyacente a bromo ($Y-CH_2$) a mayores frecuencias tanto en RMN- 1H , de 3.4 a 4.0 ppm, como en RMN- ^{13}C , de 36 a 64 ppm, debido a la formación del nuevo enlace OCH_2 . La pertenencia de dichas señales a la cadena de cuatro eslabones presente en estos derivados se pudo comprobar mediante la realización de experimentos TOCSY.

Además, en RMN- 1H pueden observarse las señales correspondientes al anillo bencénico del ibuprofeno en torno a 7.1 y 7.2 ppm, las resonancias correspondientes al grupo isobutilo unido al anillo aromático (Figura 2.74-a) a 0.9 (**a**), 1.8 (**b**) y 2.4 (**c**) ppm aproximadamente, la del grupo metinilo adyacente al carbonilo (**h**) en torno a 3.7 ppm y la del metilo (**i**) directamente unido a este grupo aproximadamente a 1.5 ppm. Dichas señales se diferencian de las del resto del esqueleto dendrítico, permitiendo además corroborar la unión del ibuprofeno al dendrón carbosilano mediante la realización de experimentos de difusión DOSY-2D en los que se observa un único coeficiente de difusión para el producto final, en lugar de dos como ocurre al realizar dicho experimento con la mezcla física.

Finalmente, también el espectro de RMN- ^{13}C permite identificar las señales del fragmento ibuprofeno que aparecen en torno a δ 127 y 129 para los C-H (**e** y **f**) del anillo aromático y a δ 138 y 140 para los C_{ipso} (**d** y **g**) de dicho anillo, a δ 22 (**a**), 30 (**b**) y 45 (**c**) para el grupo isobutilo y a δ 45 y 18 para el grupo metinilo adyacente al carbonilo (**i**) y el metilo que se sitúa sobre el mismo

(h), respectivamente. En este caso se puede observar también la resonancia del grupo carbonilo (j) presente en torno a δ 175.

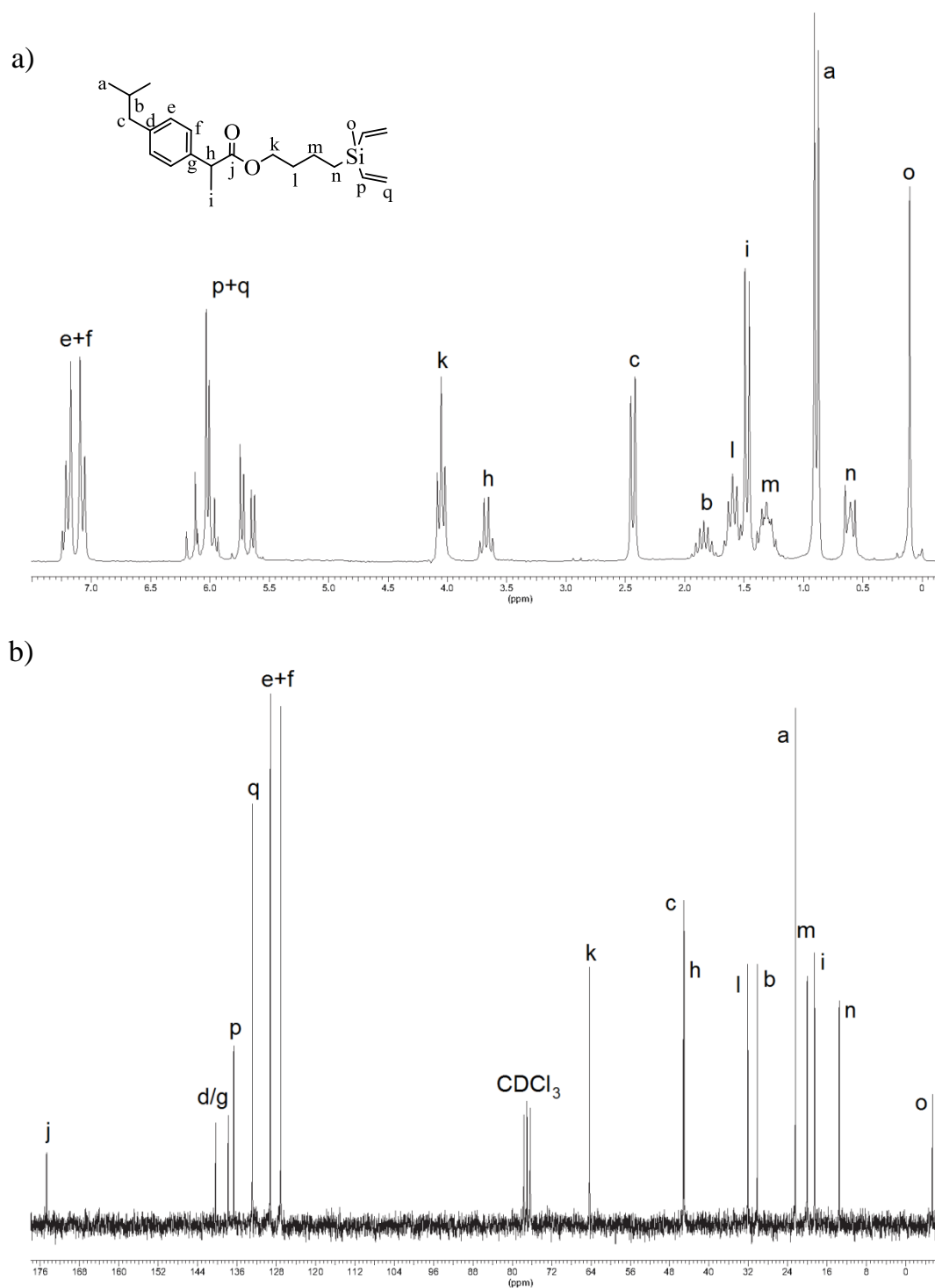


Figura 2.74 Espectro a) $\text{RMN-}^1\text{H}$ y b) $\text{RMN-}^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ del compuesto $\text{IbuCO}_2\text{G}_1\text{V}_2$ (133; δ , CDCl_3).

2.6.4.2 Caracterización de $IbuCO_2G_n(S-NMe_3^+)_m$ (142-144)

i. Espectroscopía de RMN

a) $IbuCO_2G_n(S-NMe_2\cdot HCl)_m$ (136-138)

Los precursores $IbuCO_2G_nV_m$ ($n = 1, 2, 3$; $m = 4, 8, 16$; **133-135**) se funcionalizaron por hidrotiolación observándose la aparición de resonancias idénticas a las descritas para los dendrimeros esféricos (apartado 2.3.2.1). La transformación de los grupos vinilo periféricos en la adición tiol-eno podía corroborarse por la desaparición de sus resonancias, mientras que la presencia de las nuevas cadenas da lugar a la aparición de las señales correspondientes en RMN- 1H a δ 0.8 y 2.6 para la cadena más interna $SiCH_2CH_2S$, a δ 2.9 y 3.2 para la cadena externa $SCH_2CH_2N^+$ y a 2.7 para los metilos periféricos $-NMe_2H^+$, y en RMN- ^{13}C a δ 14 y 26 para la cadena interna, a δ 24 y 55 para la cadena externa y δ 41 para los metilos periféricos.

b) $IbuCO_2G_n(S-NMe_3^+)_m$ (142-144)

La neutralización y cuaternización de los grupos nitrogenados periféricos se pudo corroborar por el desplazamiento a menores frecuencias, tras la neutralización, y mayores frecuencias, tras la cuaternización, de los metilos y metilenos unidos a nitrógeno, tal y como ocurría para los dendrímeros esféricos (apartados 2.3.2.2 y 2.3.2.3) y los dendrones análogos (apartado 2.5.2.2 y 2.5.2.3). Para los derivados finales $IbuCO_2G_n(S-NMe_3^+)_m$ ($n = 1, 2, 3$; $m = 2, 4, 8$; **142-144**) las resonancias adyacentes a nitrógeno se situaban finalmente en torno a 3.1 ($-NMe_3^+$) y 3.5 ppm (CH_2N^+) en RMN- 1H y aproximadamente a 52 ($-NMe_3^+$) y 64 ppm (CH_2N^+) en RMN- ^{13}C . Las señales del fragmento ibuprofeno no se ven afectadas durante el proceso sintético tal y como se puede comprobar en los datos proporcionados en la parte experimental de la presente memoria. Asimismo se comprobó que el enlace éster permanecía inalterado durante el proceso sintético mediante la realización de un experimento DOSY 2D (Figura 2.75).

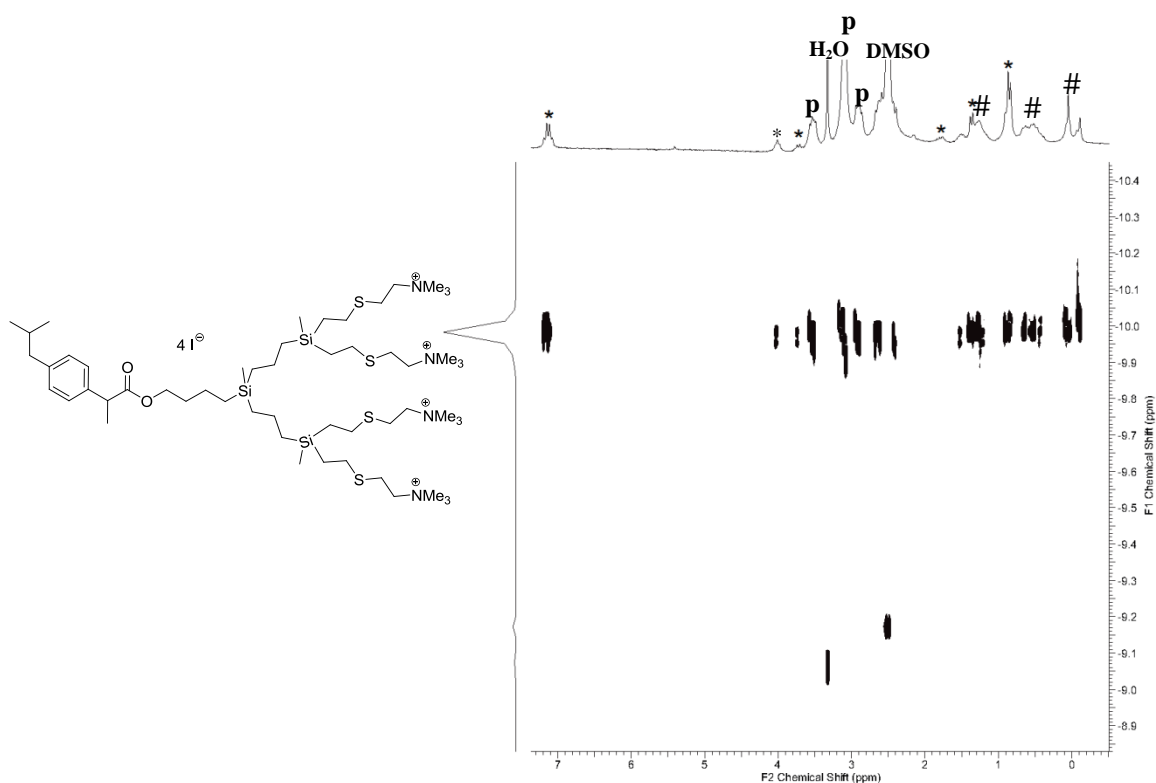


Figura 2.75 DOSY 2D del compuesto $\text{IbuCO}_2\text{G}_2(\text{S-NMe}_3^+)_4$ (**143**; δ , DMSO). * = señales correspondientes al ibuprofeno y la cadena interna de cuatro eslabones, # = CBS, p = señales características de la periferia dendrítica.

ii. Espectrometría de masas

La espectrometría de masas permite observar el ión $[\text{M-HCl-Cl}]^+$ del compuesto $\text{IbuCO}_2\text{G}_1(\text{S-NMe}_2\cdot\text{HCl})_2$ (**136**, $m/z = 569.36$); el ión $[\text{M-2HCl-2Cl}]^{2+}$ del compuesto $\text{IbuCO}_2\text{G}_2(\text{S-NMe}_2\cdot\text{HCl})_4$ (**137**, $m/z = 502.32$); el ión $[\text{M-4HCl-4Cl}]^{4+}$ del compuesto $\text{IbuCO}_2\text{G}_3(\text{S-NMe}_2\cdot\text{HCl})_8$ (**138**, $m/z = 468.80$); el ión $[\text{M+H}]^+$ de los derivados $\text{IbuCO}_2\text{G}_n(\text{S-NMe}_2)_m$: **139** ($m/z = 569.4$), **140** ($m/z = 1003.6$) y **141** ($m/z = 1874.0$); y el ión $[\text{M-2I}]^{2+}$ del compuesto $\text{IbuCO}_2\text{G}_1(\text{S-NMe}_3^+\text{I})_2$ (**142**, $m/z = 299.20$).

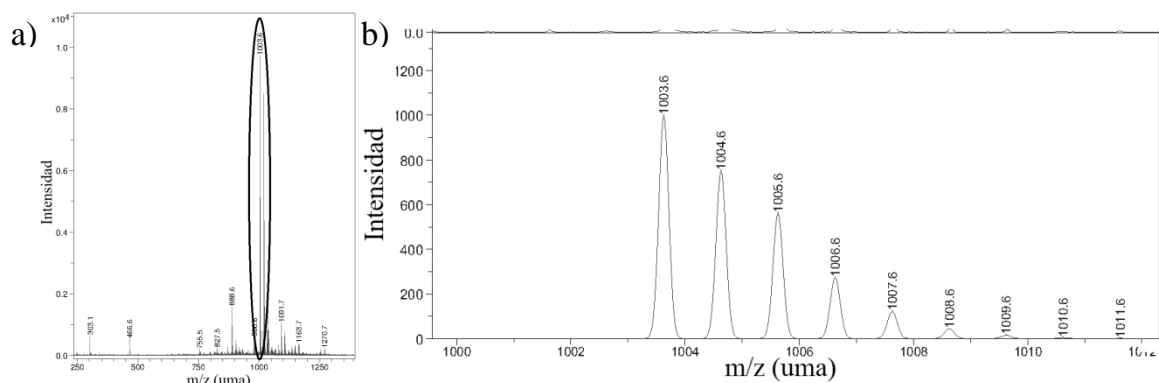


Figura 2.76 a) Espectro de masas de $\text{IbuCO}_2\text{G}_2(\text{S-NMe}_2)_4$ (**140**) b) Ampliación de su ión molecular $[\text{M}+\text{H}]^+$.

iii. Estudios de liberación de ibuprofeno por HPLC

Puesto que el objetivo de introducir un fragmento ibuprofeno en estos derivados es obtener una acción combinada entre la estructura dendrítica y el mismo, es necesario que se produzca la liberación de este fármaco en el organismo. Los compuestos con ibuprofeno $\text{IbuCO}_2\text{G}_n(\text{S-NMe}_3^+)_m$ (**142-144**) son estables en disolución acuosa, incluso a pH ligeramente ácido. Sin embargo, en un organismo existen enzimas hidrolasas responsables de degradar enlaces tipo éster, como el que une al fragmento ibuprofeno al esqueleto dendrítico en estos compuestos. Para comprobar si el fármaco antiinflamatorio podría liberarse en presencia de enzimas, se sometieron los dendrones $\text{IbuCO}_2\text{G}_n(\text{S-NMe}_3^+)_m$ (**142-144**) y el dendrímero $\text{G}_2\text{O}_3(\text{OCOIbu})(\text{S-NMe}_3^+)_{11}$ (**74**) a un tratamiento con esterasas de hígado de cerdo.

La cantidad de ibuprofeno liberado se monitorizó por HPLC tras la adición de la enzima seleccionada en la cantidad recomendada por la casa comercial (Sigma Aldrich; 1 μmol ester:1 unidad), comprobando que todos los derivados liberaban el fármaco durante las primeras horas, hasta alcanzar un máximo que depende de cada compuesto (Figura 2.77). Este experimento mostraba además mayor facilidad para liberar ibuprofeno para los dendrones de primera y tercera generación **142** y **144**, tanto al inicio del experimento como a lo largo del tiempo. La adición de nuevas fracciones de enzima reactiva el proceso de ruptura del enlace éster. Teniendo en cuenta el comportamiento observado,

este sistema podría considerarse adecuado con el fin de obtener efectos conjugados ya que el fármaco podría liberarse de manera lenta en el organismo proporcionando una dosis continua del compuesto antiinflamatorio en la zona de actuación del dendrímero.

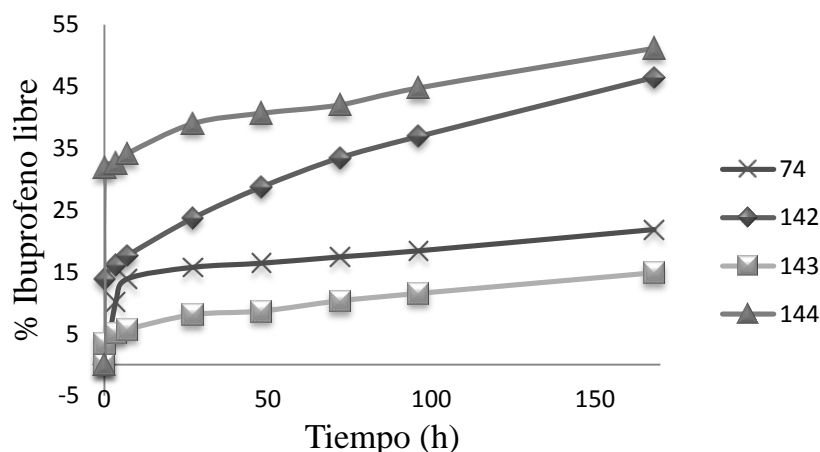
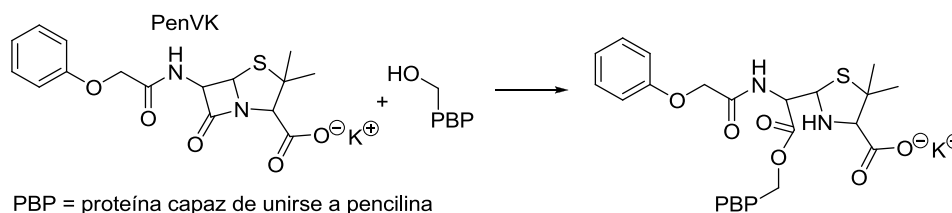


Figura 2.77 Representación del porcentaje de liberación de ibuprofeno en los derivados $G_2O_3(OCOibu)(S-NMe_3^+)_n$ (**74**) y $IbuCO_2G_n(S-NMe_3^+)_m$ (**142-144**) en función del tiempo tras una única adición de esterasas (1 μ mol ester:1 unidad).

2.6.5 Estudio preparativo de los dendrones que contienen penicilina en el punto focal

La penicilina es un antibiótico específico para bacterias de tipo Gram+ cuya estructura consta de un anillo β lactámico, que es esencial para su acción bactericida debido a su facilidad para reaccionar con nucleófilos. Su modo de acción se basa en la unión covalente mediante acilación a través del anillo β lactámico a los residuos de serina de proteínas que intervienen en la síntesis de la membrana bacteriana (Esquema 2.33).⁶⁷



Esquema 2.33 Reactividad de la penicilina V potásica con proteínas.

Teniendo en cuenta las propiedades bactericidas de amplio espectro frente a bacterias de tipo Gram+ y Gram- presentadas por dendrímeros carbosilano, anteriormente descritos en nuestro grupo de investigación,⁶⁸ así como por los derivados descritos en esta memoria (Capítulo 3), se decidió combinar la acción de los compuestos dendríticos con la de este antibiótico.

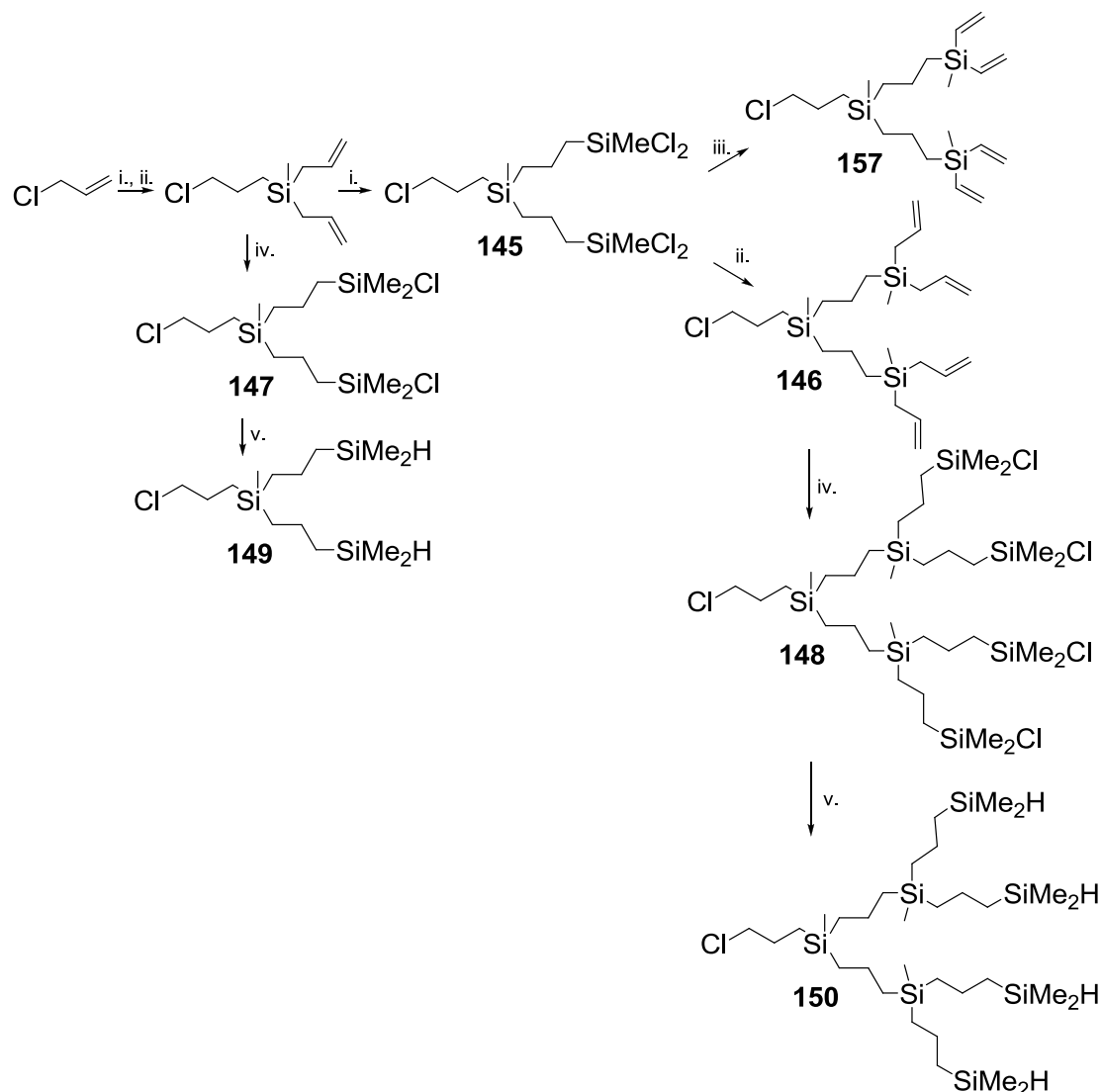
2.6.5.1 Síntesis de $\text{PenCO}_2\text{G}_n(\text{Si-NMe}_3^+)_m$ (155-156)

La sensibilidad del anillo β lactámico a nucleófilos así como su necesaria presencia para que los derivados de penicilina sean activos,⁶⁹ hizo necesario elaborar una ruta sintética en la que se evitara el contacto del antibiótico con nucleófilos como alcoholes, aminas o tioles.⁷⁰

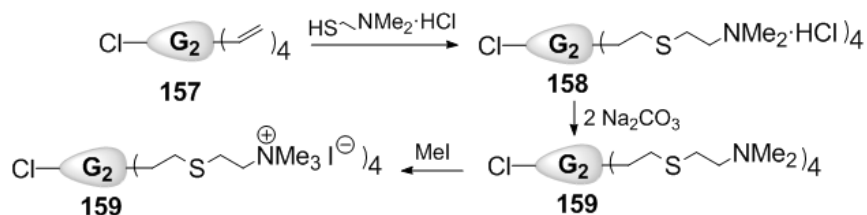
Teniendo en cuenta lo anteriormente expuesto y la estructura de la penicilina V potásica (Esquema 2.33), se estableció que lo más adecuado era hacer uso del grupo carboxilato libre de la penicilina y realizar una reacción de acoplamiento entre el mismo y un dendrón que contuviese un halógeno en el punto focal del tipo $\text{XG}_n(\text{S-NMe}_3^+)_m$ (Figura 2.78 izq.). Como halógeno se utilizó cloro en lugar de bromo, debido a la mayor reactividad de los derivados bromados que impide la coincidencia en una misma molécula del grupo halógeno Br-C y un grupo amino, ya que se produciría la sustitución nucleófila del halógeno por el grupo amino. Por otra parte, en el dendrón precursor, se decidió situar grupos de tipo trimetilamonio $-\text{NMe}_3^+$ en la periferia en lugar de grupos amino $-\text{NMe}_2$ para evitar la adición nucleófila intramolecular del punto focal de tipo Cl-CH₂ con los grupos periféricos $-\text{NMe}_2$ en las condiciones de reacción necesarias para el acoplamiento del dendrón, con un halógeno en el punto focal, y penicilina. Además el medio básico proporcionado por dichos grupos periféricos podría producir la ruptura del anillo β lactámico.

Teniendo en cuenta las consideraciones anteriores, se sintetizó el derivado $\text{ClG}_2(\text{S-NMe}_3^+)_4$ (**160**, Esquema 2.35, Figura 2.78 izq.). Para ello, inicialmente se preparó un derivado vinilo de segunda generación, ClG_2V_4 , a partir de cloruro de alilo, por hidrosililación y alquencilación (Esquema 2.34). A continuación,

siguiendo los protocolos ya descritos anteriormente, se funcionalizó la periferia via tiol-eno, neutralización y adición de yoduro de metilo. Sin embargo, los intentos de introducir el fragmento penicilina en el punto focal fallaron observándose la ruptura del anillo β lactámico, posiblemente por la presencia de grupos tioéter en la estructura de la cuña dendrítica.



Esquema 2.34 Síntesis de los derivados con Cl en el punto focal. i. HSiMeCl_2 [Pt], ii. MgBrC_3H_5 , iii. ClMgC_2H_3 , iv. HSiMe_2Cl [Pt], v. LiAlH_4 .



Esquema 2.35 Síntesis del derivado $\text{ClG}_2(\text{S-NMe}_3^+)_4$ (159).

Para evitar este inconveniente, se diseñó una cuña con el mismo punto focal y grupos periféricos pero sin átomos dadores en su estructura, utilizándose para la funcionalización reacciones de hidrosililación, como las descritas en el apartado 2.2, sintetizándose los dendrones $\text{ClG}_n(\text{Si-NMe}_3^+)_m$ (**153,154**, Esquema 2.36, Figura 2.78 dcha.)

Así a una disolución de $\text{ClG}_n(\text{SiH})_m$ (**149-150**) en THF se añadieron 2 equivalentes de $\text{C}_3\text{H}_5\text{NMe}_2$ en presencia de catalizador de Karstedt y se dejó reaccionar durante 16 h a 60 °C en una ampolla con llave de teflón. Una vez obtenidos los derivados $\text{ClG}_n(\text{Si-NMe}_2)_m$ (**151-152**) se cuaternizaron los grupos amino $-\text{NMe}_2$ periféricos en presencia de exceso de MeI para obtener los derivados $\text{ClG}_n(\text{Si-NMe}_3^+)_m$ (**153-154**, Esquema 2.36).

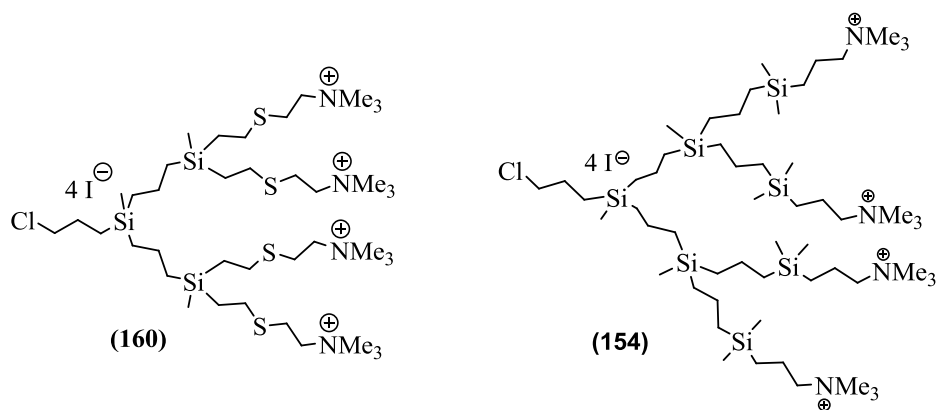
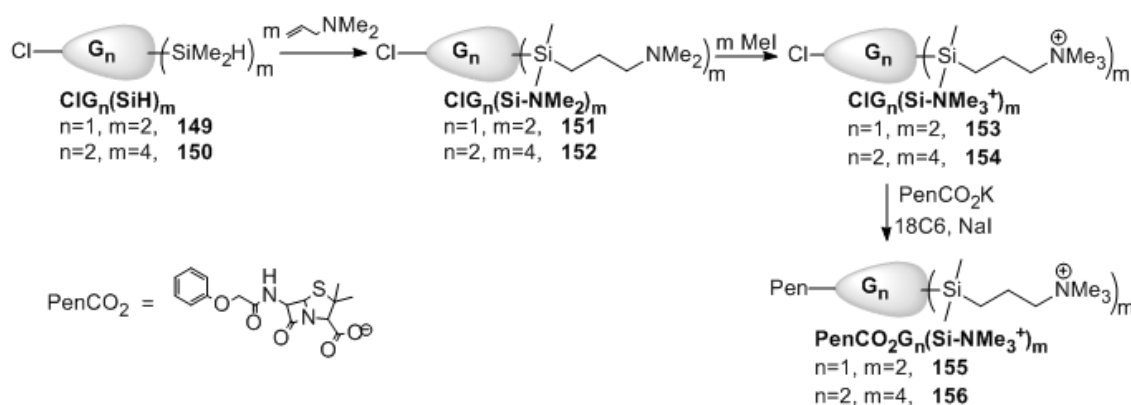


Figura 2.78 Estructura del dendrón $\text{ClG}_2(\text{S-NMe}_3^+)_4$ (**160**) y del dendrón $\text{ClG}_2(\text{Si-NMe}_3^+)_4$ (**154**).

El uso de las cuñas **153-154** sí permite alcanzar el objetivo de preparar dendrones catiónicos con un punto focal de tipo penicilina. Para ello, una disolución de los compuestos **153-154** en DMF con cantidades catalíticas de NaI, éter corona (0.1 equivalentes) y penicilina V potásica (1.05 equivalentes), se calentó durante dos días a 80 °C para la primera generación y 100 °C para la segunda generación, formándose los derivados $\text{PenCO}_2\text{G}_n(\text{Si-NMe}_3^+)_m$ ($n = 1, 2$; $m = 2, 4$; **155-156**, Esquema 2.36) con rendimientos en torno al 90 %.



Esquema 2.36 Síntesis de los dendrones con penicilina V en el punto focal *PenCO₂G_n(Si-NMe₃⁺)_m* (**155** y **156**).

El derivado de primera generación se obtiene como un aceite altamente viscoso soluble en disolventes clorados de uso común, DMSO y DMF, pero insoluble en agua. Sin embargo, el derivado de segunda generación **143** (Figura 2.79) se presenta como un sólido blanco altamente higroscópico soluble en agua, DMSO y DMF, pero insoluble en disolventes clorados. Ello se debe a la gran diferencia de polaridad en ambos compuestos debido a la introducción de un fragmento orgánico relativamente grande, la penicilina, que proporciona hidrofobicidad a la molécula.

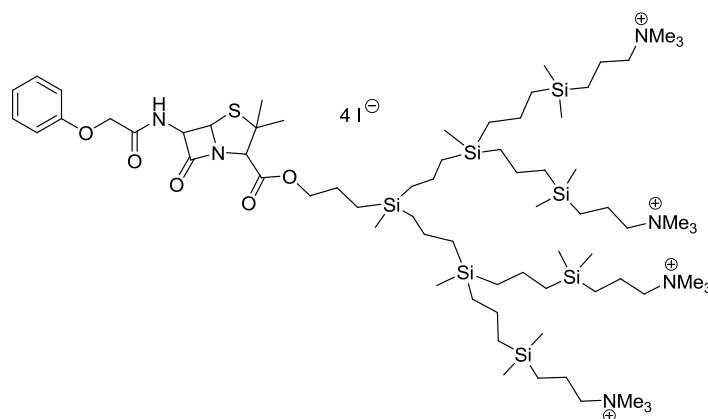


Figura 2.79 Estructura del derivado **156**.

2.6.6 Estudio estructural de los dendrones que contienen penicilina en el punto focal

2.6.6.1 Caracterización de $\text{PenCO}_2\text{G}_n(\text{Si-NMe}_3^+)_m$ (155-156)

i. Espectroscopía de RMN

Puesto que los espectros de RMN correspondientes a los derivados ClG_nY_m (donde $\text{Y} = \text{SiMe}_2\text{Cl}$, SiMeCl_2 , SiMe_2H o C_3H_5 ; **145-154**) son similares a los anteriormente publicados^{36e} o descritos en la presente tesis, nos centraremos en la discusión de los dendrones $\text{PenCO}_2\text{G}_n(\text{Si-NMe}_3^+)_m$ (**155-156**) que compararemos con sus precursores $\text{ClG}_n(\text{Si-NMe}_3^+)_m$ (**153-154**). No obstante, la información completa sobre la caracterización estructural de todos los derivados puede encontrarse en la sección experimental de la presente memoria.

La señal más característica, en los espectros de $\text{RMN-}^1\text{H}$ y ^{-13}C , que permite evaluar la formación de los derivados $\text{ClG}_n(\text{Si-NMe}_3^+)_m$ (**153-154**) es la correspondiente al metileno adyacente al átomo de cloro ClCH_2 que aparece a 3.6 y 48 ppm en $\text{RMN-}^1\text{H}$ y ^{-13}C respectivamente. El resto de señales corresponden con las esperadas tal y como se puede comprobar comparando los datos obtenidos para estos derivados y los compuestos $\text{G}_n\text{Y}(\text{Si-NMe}_3)_m$ (**7-12**).

Una vez introducido el grupo penicilina en el punto focal, el metileno adyacente al grupo éster $\text{PenCO}_2\text{CH}_2$ desplaza sus señales de $\text{RMN-}^1\text{H}$ y ^{-13}C a 4.1 y 67 ppm, tal y como se puede comprobar en la Figura 2.80 y la Figura 2.81. Además se observan las señales correspondientes al grupo penicilina que aparecen con la intensidad y desplazamientos esperados según la estructura propuesta. En $\text{RMN-}^1\text{H}$ (Figura 2.80) se pueden distinguir las resonancias del anillo β lactámico en torno a δ 4.4 (**c**), 5.6 (**d**) y 5.7 (**e**), así como las señales del anillo bencénico a aproximadamente δ 6.9, 7.0 y 7.3 y del metileno adyacente al mismo (**r**) en torno a 4.5 ppm (Figura 2.80). En cuanto a la $\text{RMN-}^{13}\text{C}$, las resonancias del anillo β lactámico correspondientes al fragmento penicilina

aparecen a 70, 58 y 173 ppm (Figura 2.81), demostrando que dicho anillo no se ve alterado durante el proceso sintético.

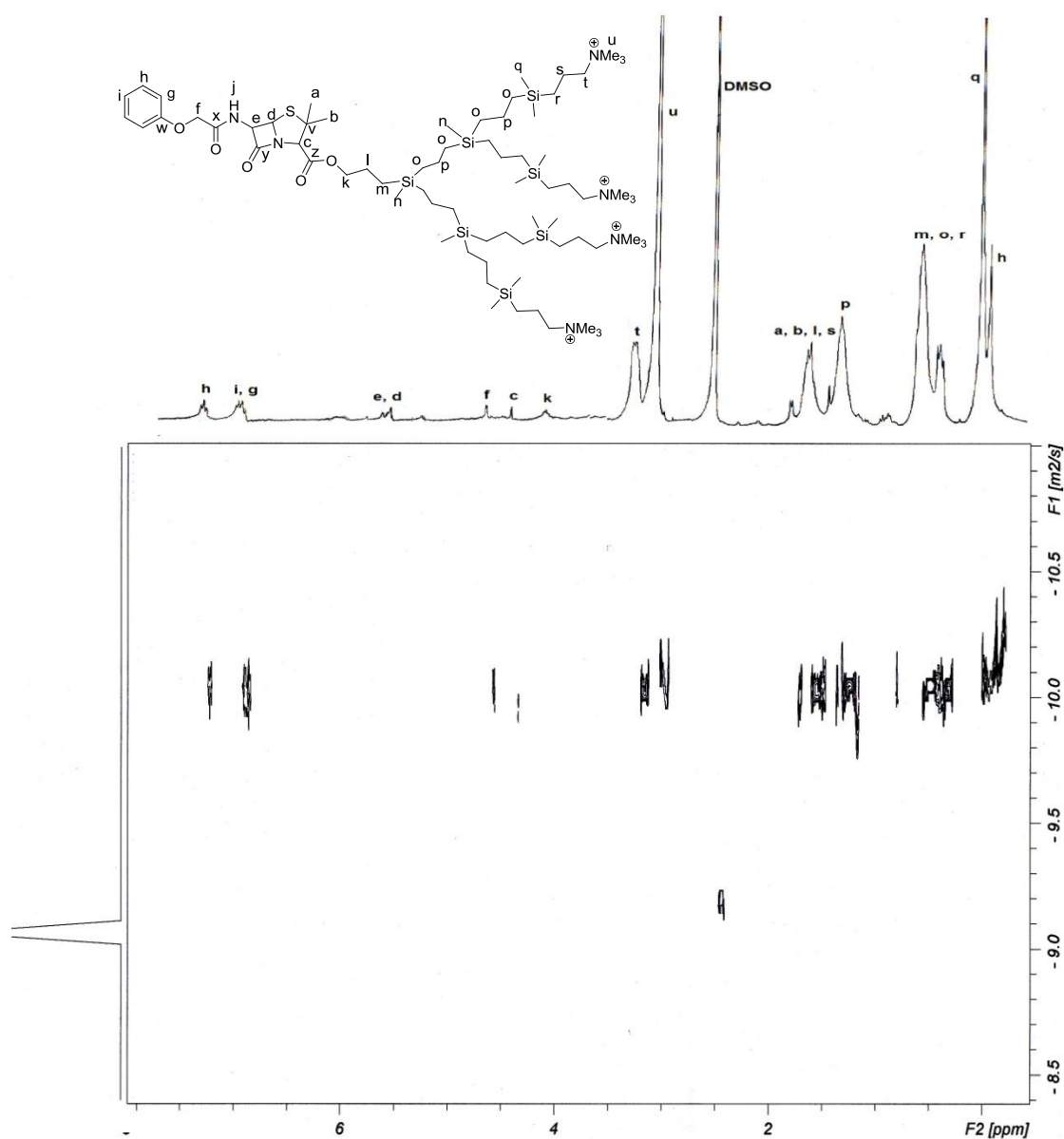


Figura 2.80 Espectro RMN- ^1H y DOSY 2D del derivado $\text{PenCO}_2\text{G}_2(\text{Si-NMe}_3^+)_4$ (156; δ , DMSO-d_6).

La cadena que une el fragmento penicilina al dendrón se observa en el correspondiente espectro TOCSY. También la realización de un experimento de difusión DOSY-2D permite corroborar la unión de la molécula de penicilina al esqueleto dendrítico al observarse un único coeficiente de difusión para el conjunto de las señales, algo que no ocurre en la mezcla física (Figura 2.80).

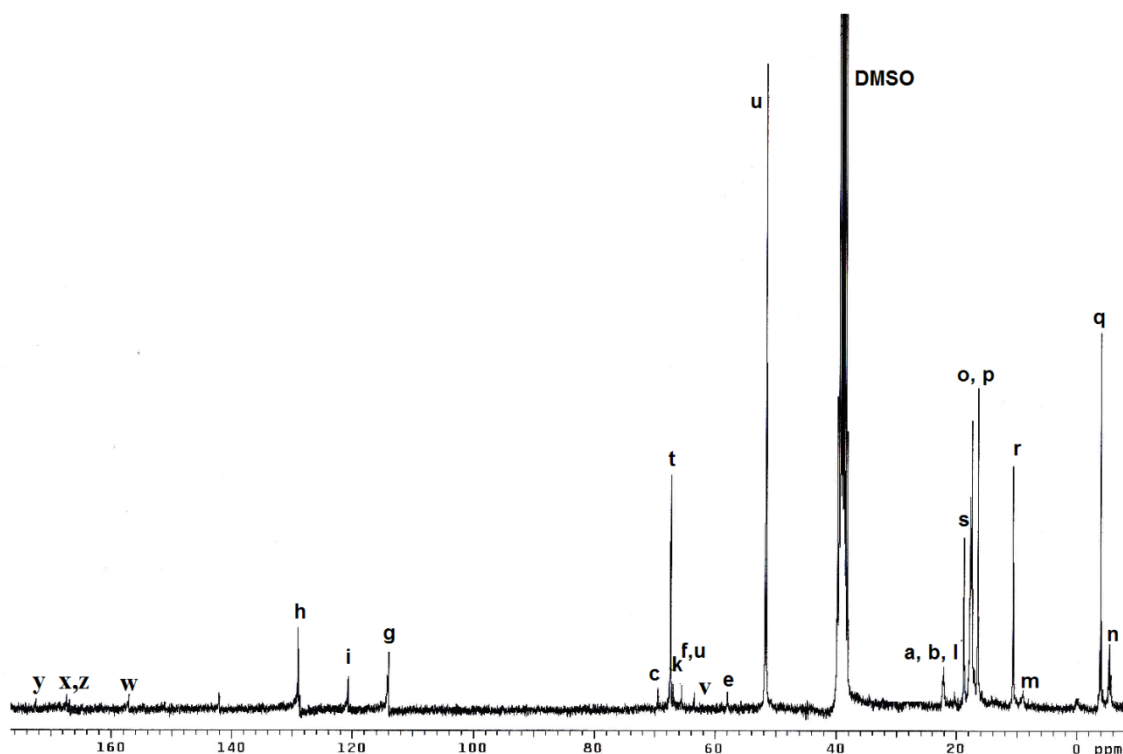


Figura 2.81 Espectro RMN- $^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ del derivado $\text{PenCO}_2\text{G}_2(\text{Si-NMe}_3^+)_4$ (**156**; δ , $\text{DMSO-}d_6$).

ii. Espectrometría de masas

La espectrometría de masas permite observar el ión $[\text{M}+\text{H}]^+$ del compuesto $\text{ClG}_2(\text{Si-NMe}_2)_4$ (**152**, $m/z = 1035.8$), $[\text{M}-\text{I}]^+$ del compuesto $\text{ClG}_1(\text{Si-NMe}_3^+\text{I})_2$ (**153**, $m/z = 649.31$), $[\text{M}-2\text{I}]^{2+}$ del compuesto $\text{PenCO}_2\text{G}_1(\text{Si-NMe}_3^+\text{I})_2$ (**155**, $m/z = 418.26$), $[\text{M}-3\text{I}]^{3+}$ del derivado $\text{PenCO}_2\text{G}_2(\text{Si-NMe}_3^+\text{I})_4$ (**156**, $m/z = 512.0$), $[\text{M}-\text{HCl}-3\text{Cl}]^{3+}$ (**158**, $m/z = 273.82$) y $[\text{M}+\text{H}]^+$ (**159**, $m/z = 819.46$).

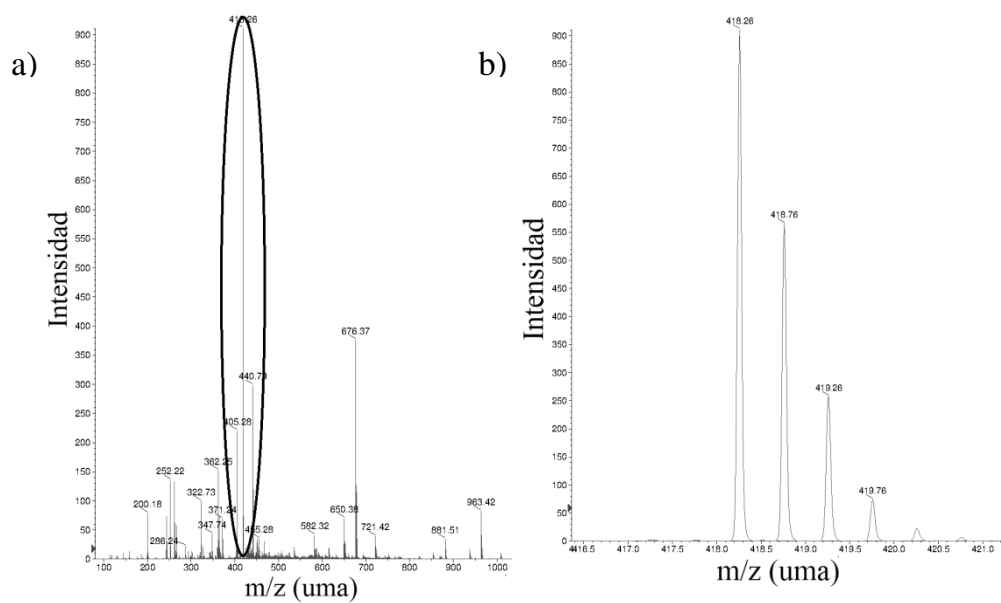


Figura 2.82 a) Espectro de masas del compuesto $\text{PenCO}_2\text{G}_1(\text{Si-NMe}_3^+)_2$ (**155**) y b) Ampliación de su ión molecular $[\text{M}-2\text{I}]^{2+}$.

2.7 Obtención de materiales híbridos

Los sistemas dendríticos anteriormente descritos nos han permitido también abordar la preparación de sistemas dendríticos más complejos. En primer lugar se ha estudiado la posibilidad de emplear dendrímeros esféricos como agentes plantilla en la estabilización de nanopartículas metálicas. Además, tal y como se ha comentado en la introducción del presente capítulo, los dendrones pueden utilizarse en procesos denominados de dendronización para obtener sistemas más complejos. En el apartado 2.5 del presente capítulo se ha explorado la funcionalización con distintos puntos focales de dendrones de tipo carbosilano solubles en un gran rango de disolventes, lo cual ha abierto la posibilidad de sintetizar tanto dendrímeros híbridos que contienen un esqueleto distinto al carbosilano, como materiales o nanopartículas. En este apartado se exploran las posibilidades sintéticas que ofrecen los dendrones anteriores para la funcionalización de nuevos dendrímeros o materiales, todo ello orientado a la utilización de dichos derivados en las aplicaciones descritas en la presente memoria (Capítulo 3). Los resultados expuestos a continuación son consecuencia de la colaboración con distintos grupos de investigación.

2.7.1 Dendrímeros esféricos como plantillas para la formación de nanopartículas metálicas

La formación de estructuras híbridas entre nanopartículas y dendrímeros esféricos se ha llevado a cabo en el contexto de una estancia predoctoral en el grupo del Dr. Amir Fahmi en la Universidad de Rhein-Waal (Kleve, Alemania).

La combinación de las propiedades de sistemas dendríticos con las propiedades específicas de un metal de transición permite el empleo de sistemas híbridos en nuevas terapias.⁷¹ En nuestro grupo de investigación se han realizado dos trabajos previos en los que se incorporaban iones metálicos en dendrímeros de tipo PPI y carbosilano con grupos aniónicos en su periferia, encontrándose en

ambos casos que la incorporación de iones metálicos en su estructura potenciaba la actividad antiviral del dendrímero frente al VIH.^{44b; 72}

Los dendrímeros también se han utilizado para encapsular nanopartículas con el fin de aumentar la solubilidad, la estabilidad o la biodistribución de las mismas.⁷³ Entre las nanopartículas más comúnmente empleadas se han utilizado nanopartículas de oro o plata por sus propiedades contra numerosas enfermedades como Alzheimer o sida, así como por sus propiedades como agentes de imagen o como agentes antibacterianos.⁷³⁻⁷⁴

Numerosos grupos funcionales han mostrado capacidad para estabilizar nanopartículas, entre ellos destacan los grupos amino,⁷⁵ los grupos tiol⁷⁶ o los tioéter.^{74a} Por ello, con el fin de estudiar en un futuro las propiedades de los sistemas híbridos entre nanopartículas y dendrímeros, se realizó un estudio previo sobre la posibilidad de producir la estabilización de nanopartículas de oro y plata por dendrímeros de tipo carbosilano que poseían algunos de estos grupos en su estructura. Para ello se eligieron tres familias de dendrímeros. En primer lugar los compuestos $G_nO_3(S-NH_3^+)_m$ (**26-28**), a partir de los cuales por neutralización se generan los derivados $G_nO_3(S-NH_2)_m$ (**26n-28n**), con el fin de estudiar la posibilidad de ejercer un efecto plantilla por acción de los grupos amino periféricos y tioéter en su estructura. En segundo lugar se utilizaron los derivados $G_nO_3(S-NMe_3^+)_m$ (**46-48**) con tan sólo grupos tioéter en su estructura, como posibles grupos estabilizantes de nanopartículas. Y finalmente, se emplearon los derivados $G_nO_3(S-NMe_2)_m$ (**39-41**) con grupos tioéter y grupos amino terciarios. En la presente memoria tan sólo se muestran los resultados obtenidos para las nanopartículas de oro, puesto que la realización de experimentos análogos con nanopartículas de plata generaba la precipitación de plata metálica Ag^0 .

En la presente memoria se expone un estudio preliminar que está siendo completado en colaboración con el grupo en el que se realizó la estancia.

2.7.1.1 Estabilización de nanopartículas de oro por $G_nO_3(S-NH_2)_m$ (**26n-28n**)

Se dejó reaccionar una mezcla de los dendrímeros $G_nO_3(S-NH_2)_m$ ($n = 1, 2, 3$ y $m = 6, 12, 24$; **26n-28n**) con un equivalente de $HAuCl_4$ en metanol durante 16 h. Tras dicho tiempo no se observó la formación de nanopartículas en el caso del dendrímero de primera generación $G_1O_3(S-NH_2)_6$ (**26n**), aunque sí para los dendrímeros de segunda y tercera generación, obteniéndose las correspondientes nanopartículas **Au-27n** y **Au-28n** cuyas dispersiones adquieren un color rosáceo y rojo vino respectivamente. La formación de nanopartículas se corroboró por UV-Vis, técnica en la que aparece la banda correspondiente a la resonancia de plasmón en torno a 530 nm. La longitud de onda a la que aparece dicha banda, relacionada con el tamaño de las nanopartículas, es constante en el tiempo para las nanopartículas estabilizadas por el dendrímero de tercera generación **28n**, mientras que para el de segunda generación, **27n**, se produce un aumento en dicha longitud de onda durante las primeras 48 h, tras las cuales, se produce una estabilización del tamaño, oscureciéndose la disolución hasta adquirir un color morado. Sin embargo, en ninguno de los tiempos estudiados se observaba la formación de nanopartículas para el dendrímero de primera generación **26n**.

En este caso, es posible que la reducción del oro esté mediada por interacciones con los grupos amino periféricos de los dendrímeros empleados,⁷⁷ siendo por ello más rápida la reducción para la tercera generación por su mayor números de grupos. Además, mientras que los dendrímeros utilizados en este ensayo son solubles en disolventes orgánicos, la mezcla resultante no era soluble en dichos disolventes. Se realizó además un espectro de RMN-¹H en D₂O que permite observar el desplazamiento de las señales correspondientes a los grupos periféricos CH_2N a mayores frecuencias, lo cual puede deberse tanto a la protonación de los grupos amino periféricos como a la coordinación de los grupos amino a la superficie de las nanopartículas formadas.

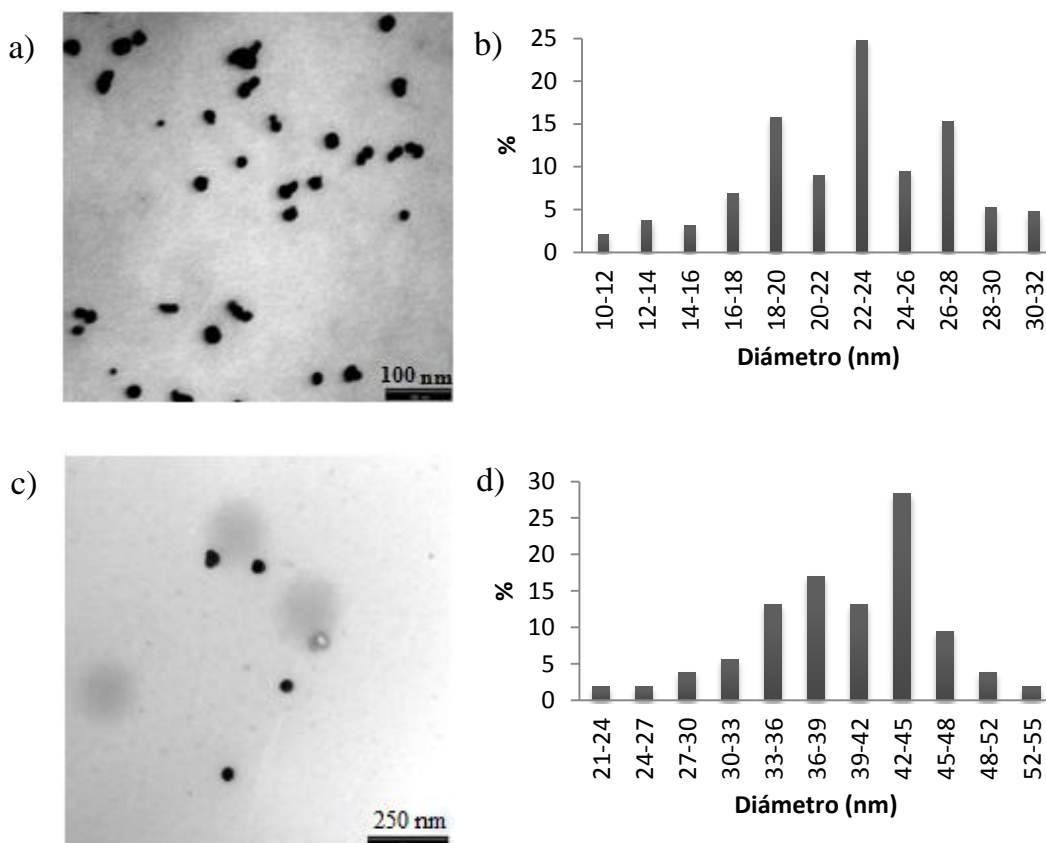


Figura 2.83 a) TEM y b) distribución de tamaños de las nanopartículas de oro estabilizadas por $G_2O_3(S-NH_2)_{12}$ (**AuNP-27n**) y c) TEM y d) distribución de tamaños para las nanopartículas de oro estabilizadas por $G_3O_3(S-NH_2)_{24}$ (**AuNP-28n**).

La adición de un agente reductor debería favorecer la formación de nanopartículas. De esta manera, cuando la reacción anterior se realiza en presencia de dos equivalentes de hidracina se obtienen nanopartículas idénticas a las estabilizadas por los dendrímeros de segunda (**27n**) y tercera generación (**28n**), aunque en menores tiempos de reacción. Sin embargo, en el caso del dendrímero de primera generación, **26n**, se produce la precipitación de Au^0 , confirmando que el número de grupos y su disposición no son las adecuadas para estabilizar estos sistemas.

La realización de TEM ha permitido dilucidar el tamaño de las nanopartículas formadas. El dendrímero de segunda generación $G_2O_3(S-NH_2)_{12}$ (**27n**) estabiliza nanopartículas de menor tamaño, 22.3 ± 4.8 nm (**AuNP-27n**), con respecto a las estabilizadas por el dendrímero de tercera generación, $39.5 \pm$

6.0 (**AuNP-28n**), lo cual puede tener relevancia en futuras aplicaciones de estos derivados híbridos (Figura 2.83).

2.7.1.2 Reacción de HAuCl_4 con $\text{G}_n\text{O}_3(\text{S-NMe}_3^+)_m$ (47-48)

Al realizar un ensayo similar con dendrímeros con grupos $-\text{NMe}_3^+$ periféricos, se debe tener en cuenta que los iones yoduro pueden comportarse como agentes reductores por lo que, en primer lugar, se intentó realizar la reducción del precursor AuCl_4^- con las estructuras dendríticas empleadas. En este caso y, dados los resultados obtenidos en el apartado 2.7.4.1, decidimos emplear tan sólo los dendrímeros de segunda y tercera generación. Tras la adición de la solución dendrítica sobre el precursor de oro previamente disuelto en agua, las disoluciones adquieren un color amarillo brillante que permanece en el tiempo. Sin embargo, el UV-Vis no muestra ningún pico que se pueda relacionar con la resonancia de plasmón, aunque sí se observa la desaparición del pico a 305 nm correspondiente al ión AuCl_4^- y la aparición de dos picos a 295 y 365 nm (Figura 2.84), quizá debido a la formación de Au^+ .

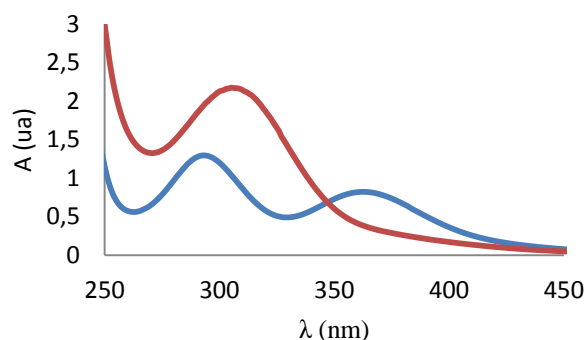


Figura 2.84 Espectro UV-Vis de HAuCl_4 (rojo) y $\text{G}_2\text{O}_3(\text{S-NMe}_3^+)_{12}/\text{HAuCl}_4$ (azul).

La adición de hidracina a las muestras anteriores produce la precipitación de Au^0 , probablemente debido a que la presencia de grupos tioéter en la estructura dendrítica no es suficiente como para producir la estabilización de las nanopartículas formadas, revelando la importancia de la presencia de los grupos amino periféricos.

2.7.1.3 Reacción de HAuCl_4 con $\text{G}_n\text{O}_3(\text{S-NMe}_2)_m$ (40-41)

Los intentos de formar nanopartículas de oro con los dendrímeros con grupos $-\text{NMe}_2$ terminales fueron fallidos tanto en presencia, como en ausencia de hidracina. Ello indica, de nuevo, el papel clave de los grupos $-\text{NH}_2$ capaces de mediar en este proceso.

2.7.2 Dendronización de otras estructuras dendríticas

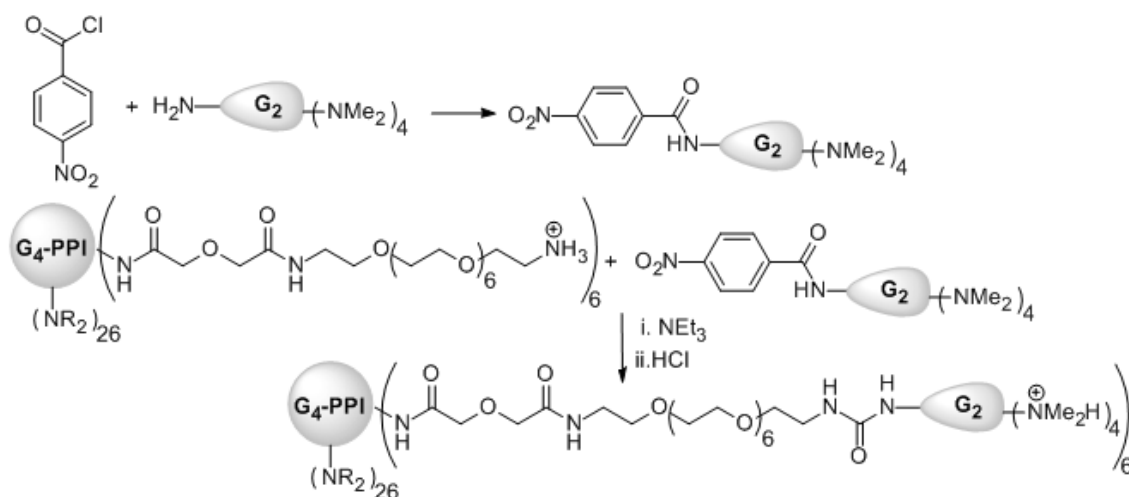
2.7.2.1 Obtención de estructuras dendríticas híbridas carbosilano-glicodendrimeros PPI

La formación de estructuras híbridas entre dendrímeros carbosilano y glicodendrimeros PPI, se ha llevado a cabo en colaboración con el Dr. Dietmar Appelhans del Leibniz-Institut für Polymerforschung de Dresde, pudiéndose encontrar la síntesis y la descripción completa de los precursores y del derivado final en un trabajo de nuestro grupo de investigación.⁷⁸

Puesto que el objetivo final de esta tesis es la utilización de las estructuras dendríticas carbosilano obtenidas en aplicaciones biomédicas, puede resultar interesante la obtención de estructuras híbridas con glicodendrimeros, muy utilizados en el campo de la biomedicina. Los glicodendrimeros son estructuras dendríticas modificadas con carbohidratos, que pueden estar incluidos en el núcleo, las ramificaciones o decorando su superficie. Estos carbohidratos pueden intervenir en procesos de reconocimiento por interacción con las proteínas de células, virus, bacterias y toxinas,⁷⁹ impidiendo de esta forma distintos procesos celulares, entre otros la infección de virus y bacterias, sin generar resistencias.⁸⁰

Para este trabajo se empleó el dendrón $\text{NH}_2\text{G}_2(\text{S-NMe}_2)_m$ (**112**) cuya unión a glicodendrimeros se realizó utilizando un espaciador, unido al dendrimer, acabado en un grupo $-\text{NH}_2$ y cloruro de p-nitrobenzoilo (pNCF) como agente acoplante, generando un sistema catiónico por posterior reacción con HCl (Esquema 2.37). Así se obtenían sistemas híbridos en los que se había

modificando la solubilidad y la carga superficial. El efecto de esta modificación está siendo estudiado actualmente para ver la posibilidad de utilizar estos sistemas como agentes transportadores de péptidos inmunogénicos, en colaboración con los grupos de las Dras. María Bryszewska y M^a Ángeles Muñoz Fernández.



Esquema 2.37 Síntesis del dendrímero híbrido carbosilano-glicodendrímico PPI, GL/PPI-112.

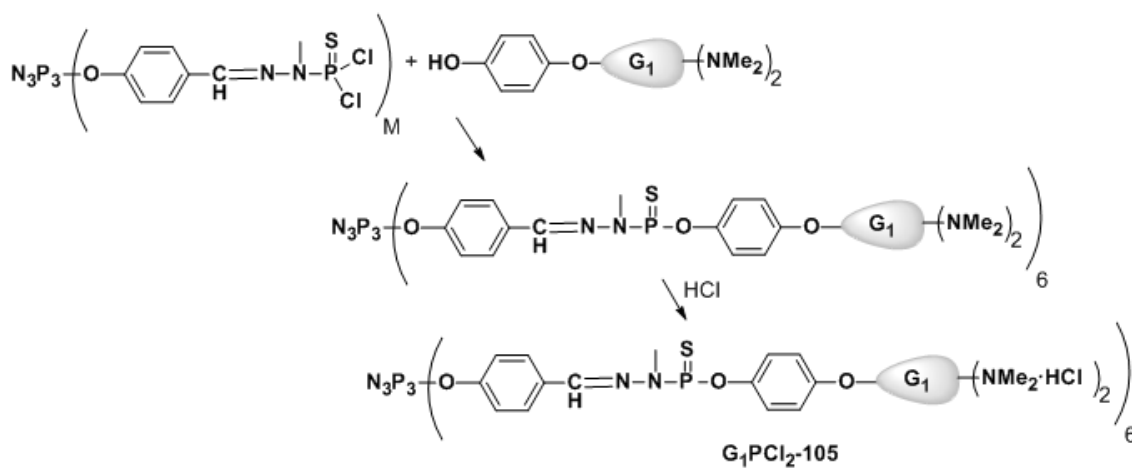
2.7.2.2 Obtención de estructuras dendríticas híbridas carbosilano-dendrímicos con átomos de fósforo

Este trabajo se ha llevado a cabo en colaboración con el Dr. Jean Pierre Majoral del CNRS (Centre National de la Recherche Scientifique) de Toulouse, pudiéndose encontrar la descripción completa de la síntesis de los compuestos precursores y del derivado final en un trabajo de nuestro grupo de investigación.⁸¹

Al igual que los dendrímeros de tipo carbosilano, los dendrímeros que contienen átomos de fósforo en su estructura también se han utilizado para diversas aplicaciones en el campo de la biomedicina, entre las que destaca su uso como agentes de transporte de fármacos o material genético, en imagen o como fármacos en sí mismos.^{5a} Por ello se propuso la obtención de compuestos híbridos que pudieran combinar las propiedades de ambos tipos de compuestos

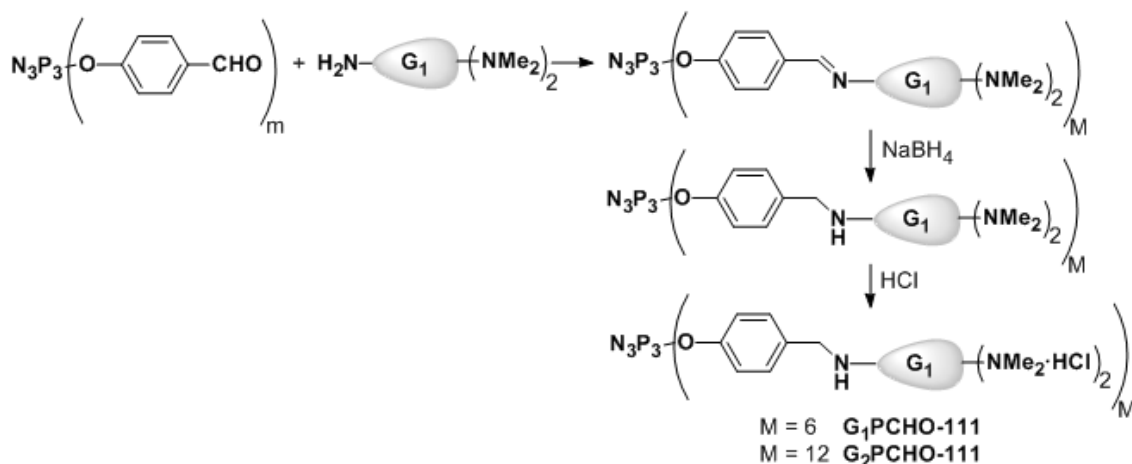
con la idea de generar efectos sinérgicos que pudieran mejorar sus propiedades biomédicas.

Para este estudio se seleccionaron los dendrones $\text{HOC}_6\text{H}_4\text{OG}_1(\text{S-NMe}_2)_2$, (**105**) y $\text{NH}_2\text{G}_1(\text{S-NMe}_2)_2$ (**111**). El dendrón con un grupo fenol en el punto focal se unió a un dendrímero de primera generación con átomos de fósforo y con grupos PSCl_2 terminales (G_1PCl_2) mediante sustitución de los grupos cloro. Los productos terminales se cuaternizaron con HCl (Esquema 2.38).



Esquema 2.38 Síntesis de dendrímeros híbridos con átomos de fósforo y carbosilano por sustitución.

Los dendrones con un grupo amino en el punto focal **111-113** se unieron por condensación a dendrímeros con átomos de fósforo de primera o segunda generación que contenían aldehídos terminales (G_nCHO). El grupo imina resultante fue reducido en presencia de NaBH_4 con el fin de evitar su degradación en disolución acuosa. Los derivados resultantes fueron cuaternizados con HCl como en el caso anterior (Esquema 2.39).



Esquema 2.39 Síntesis de dendrímeros híbridos con átomos de fósforo y carbosilano por condensación.

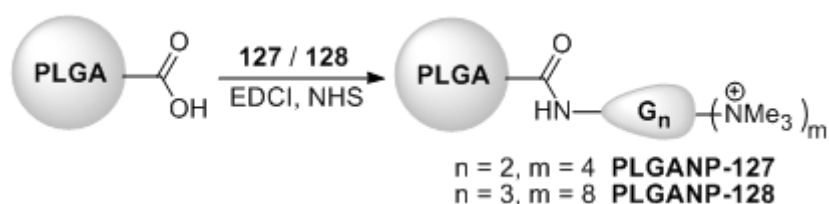
Al igual que en caso del compuesto **GL/PPI-112**, estos compuestos están siendo estudiados como agentes transportadores de péptidos inmunogénicos, en colaboración con los grupos de las Dras. María Bryszewska y M^a Ángeles Muñoz Fernández.

2.7.3 Dendronización de nanopartículas poliméricas de ácido poliláctico

Las nanopartículas del ácido poli(láctico-co-glicólico) han sido aprobadas para su uso en aplicaciones médicas por la Administración de Alimentación y Salud Americana (FDA) debido a su baja citotoxicidad y a la capacidad de degradación de la matriz que da lugar a los ácidos láctico y glicólico, que pueden entrar en el ciclo de Krebs celular y ser eliminados como CO₂ y H₂O.⁸² Por ello estas nanopartículas resultan atractivas para usarse en el transporte y la liberación de fármacos de administración oral.

Con el fin de obtener materiales híbridos entre las nanopartículas del ácido poli(láctico-co-glicólico) y los dendrones de tipo carbosilano, se estableció una colaboración con el grupo de la Dra. Conxita Solans del Instituto de Química Avanzada de Catalunya en Barcelona, para la cual se seleccionaron los dendrones NH₃⁺G_n(S-NMe₃⁺)_m (n = 2, 3; m = 4, 8, **127-128**) debido a que las nanopartículas de partida poseen grupos ácido periféricos que podrían unirse al punto focal de

estos dendrones mediante un enlace de tipo amida, generando en un paso de reacción nanopartículas catiónicas. Se utilizó N-hidroxisuccimida como agente activante del grupo ácido con el fin de facilitar la formación del enlace peptídico (Esquema 2.40), obteniéndose de forma directa los materiales híbridos **PLGANP-127** y **PLGANP-128**. Las nanopartículas así obtenidas han sido evaluadas como agentes de transporte en terapia génica, tal y como se expondrá en el Capítulo 3 y recientemente se ha publicado un manuscrito con los resultados obtenidos.⁸³



Esquema 2.40 Síntesis de las nanopartículas blandas PLGANP-127 y PLGANP-128.

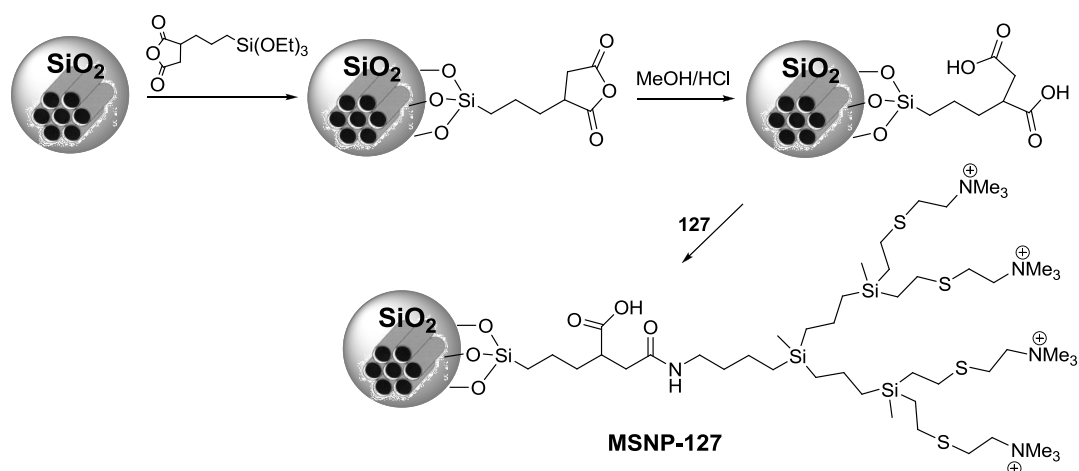
2.7.4 Dendronización de nanopartículas de sílice mesoporosa

La sílice es un material muy abundante ya que es componente de la arena. Está formada por una red de enlaces Si-O con grupos -OH libres en su superficie por lo que la manera más común de funcionalizar materiales de sílice es la utilización de agentes sililantes, comúnmente organosilanos del tipo $(\text{R}'\text{O})_3\text{SiR}$, donde R es el grupo que se quiere introducir en la matriz silícea.

En muchos casos anticuerpos o ácidos nucleicos no pueden ser utilizadas directamente ya que son muy sensibles a las condiciones del medio. Debido a ello a principios de los noventa surgió el interés por la inmovilización de estos sistemas en soportes sólidos a través de técnicas como la adsorción física, la unión covalente o la encapsulación. Si bien tanto en la encapsulación celular como en el transporte de fármacos se han utilizado tradicionalmente materiales poliméricos,⁸⁴ las matrices silíceas poseen una mayor estabilidad química y mecánica.⁸⁵ Además, la estructura porosa ordenada y el tamaño homogéneo de los poros, de entre 2 y 50 nm, en la sílice mesoporosa, favorece la

reproducibilidad de los procesos de adsorción de biomoléculas en la misma, habiéndose utilizado como sistema de transporte de fármacos desde 2001.⁸⁶

Por ello, sería interesante poder combinar la capacidad de proteger y transportar fármacos de la sílice mesoporosa con la posibilidad de utilizar en terapia génica las estructuras dendríticas de tipo carbosilano.⁸⁷ Este estudio se está realizando en colaboración con la Dras. María Vallet Regí y Blanca González Ortiz de la Universidad Complutense de Madrid y para el mismo se eligieron los dendrones $\text{NH}_3^+\text{G}_n(\text{S-NMe}_3^+)_m$ ($n = 2, 3$; $m = 4, 8$; **127-128**). Para unir dichos dendrones a la superficie de la sílice mesoporosa se ha empleado una superficie funcionalizada con grupos ácidos, intentando realizar el acoplamiento directo entre el ácido y el grupo amino del punto focal del dendrón (Esquema 2.41). Esta ruta sintética resultó exitosa para el dendrón catiónico de segunda generación generando el material **MSNP-127**, sin embargo fracasó para el dendrón de tercera generación **128**, probablemente debido a un mayor impedimento estérico del punto focal.

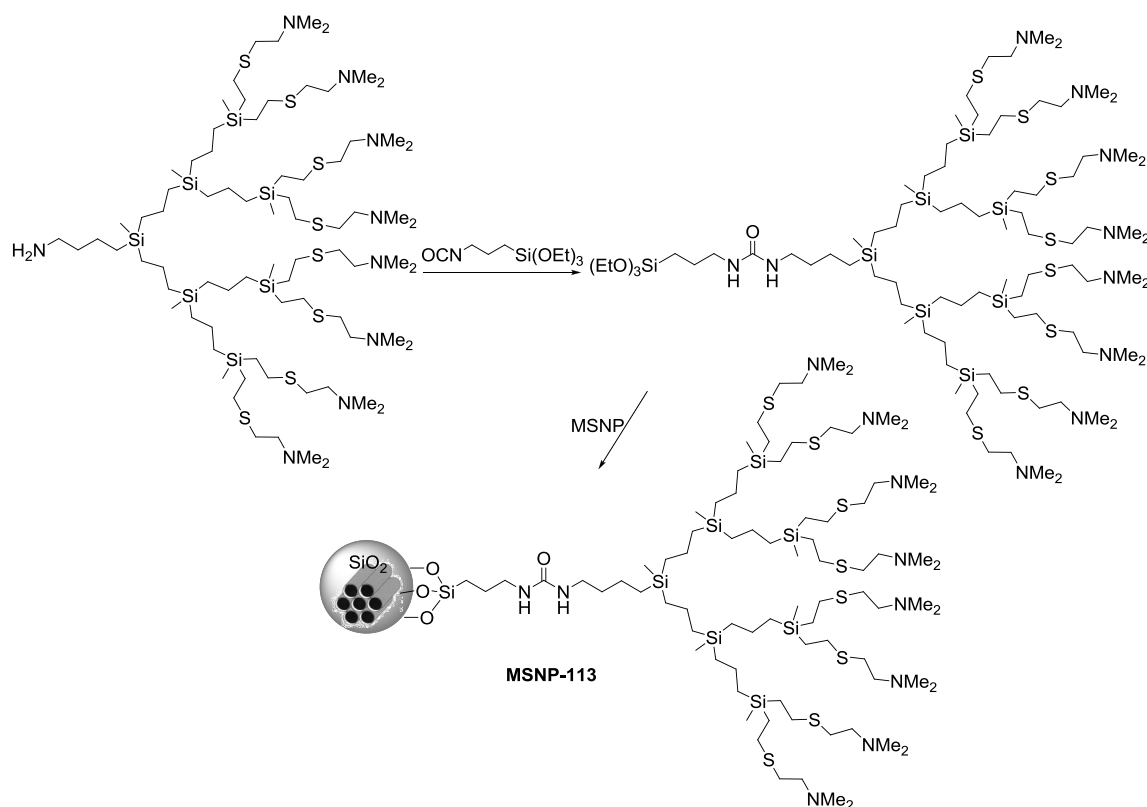


Esquema 2.41 Funcionalización de sílice mesoporosa con el dendrón **127** para obtener el material híbrido **MSNP-127**.

Para poder estudiar diferencias en función de la generación dendrítica se decidió emplear una ruta alternativa para la introducción de un dendrón de tercera generación. Para ello se partió de la cuña neutra $\text{NH}_2\text{G}_3(\text{S-NMe}_2)_8$ (**113**) que se funcionalizó con un grupo trialcoxisilano en el punto focal utilizando un grupo isocianato como medio para producir la condensación. Una vez sintetizado

el precursor se utilizó para funcionalizar la superficie de la sílice mesoporosa por condensación con los grupos silanol de la superficie (Esquema 2.42).

Actualmente los materiales sintetizados se están estudiando por su posible aplicación como agentes de transporte de material nucleico tal y como se mostrará en el Capítulo 3.



Esquema 2.42 Funcionalización de sílice mesoporosa con el dendrón **113** para obtener el material híbrido **MSNP-113**.

2.8 Bibliografía

- [1] a) Loup, C., Zanta, M. A., Caminade, A. M., Majoral, J. P., Meunier, B., *Chem. Eur. J.* **1999**, *5*, 3644; b) Meier, H., Lehmann, M., *Angew. Chem., Int. Ed.* **1998**, *37*, 643; c) Kleij, A. W., Van de Coevering, R., Gebbink, R. J. M. K., Noordman, A. M., Spek, A. L., Van, K. G., *Chem. Eur. J.* **2001**, *7*, 181.
- [2] Sideratou, Z., Tsiourvas, D., Paleos, C. M., *Langmuir* **2000**, *16*, 1766.
- [3] Patil, M. L., Zhang, M., Betigeri, S., Taratula, O., He, H., Minko, T., *Bioconjugate Chem.* **2008**, *19*, 1396.
- [4] a) Lee, J. H., Lim, Y. B., Choi, J. S., Choi, M. U., Yang, C. H., Park, J. S., *Bull. Korean Chem. Soc.* **2003**, *24*, 1637; b) Kolhatkar, R. B., Kitchens, K. M., Swaan, P. W., Ghandehari, H., *Bioconjugate Chem.* **2007**, *18*, 2054.
- [5] a) Caminade, A. M., Majoral, J. P., John Wiley & Sons, Inc.: **2012**; 139; b) Leclaire, J., Coppel, Y., Caminade, A. M., Majoral, J. P., *J. Am. Chem. Soc.* **2004**, *126*, 2304.
- [6] Rengan, K., Engel, R., *Chem. Commun.* **1990**, 1084.
- [7] Angurell, I., Muller, G., Rocamora, M., Rossell, O., Seco, M., *Dalton Trans.* **2003**, 1194.
- [8] Govender, P., Sudding, L. C., Clavel, C. M., Dyson, P. J., Therrien, B., Smith, G. S., *Dalton Trans.* **2013**, *42*, 1267.
- [9] a) Antoni, P., Hed, Y., Nordberg, A., Nyström, D., von Holst, H., Hult, A., Malkoch, M., *Angew. Chem. Int. Ed.* **2009**, *48*, 2126; b) Ma, X., Sun, Q., Zhou, Z., Jin, E., Tang, J., Van Kirk, E., Murdoch, W. J., Shen, Y., *Polym. Chem.* **2013**, *4*, 812; c) Liang, C. O., Fréchet, J. M. J., *Macromolecules* **2005**, *38*, 6276; d) Lochmann, L., Wooley, K. L., Ivanova, P. T., Fréchet, J. M. J., *J. Am. Chem. Soc.* **1993**, *115*, 7043; e) Newkome, G. R., Moorefield, C. N., Keith, J. M., Baker, G. R., Escamilla, G. H., *Angew. Chem. Int. Ed.* **1994**, *33*, 666.
- [10] a) Ornelas, C., Pennell, R., Liebes, L. F., Weck, M., *Org. Lett.* **2011**, *13*, 976; b) Taratula, O., Schumann, C., Naleway, M. A., Pang, A. J., Chon, K. J., Taratula, O., *Mol. Pharm.* **2013**, *10*, 3946.

- [11] a) Chow, H. F., Chan, I. Y. K., Chan, D. T. W., Kwok, R. W. M., *Chem. Eur. J.* **1996**, *2*, 1085; b) Tzalis, D., Tor, Y., *Tetrahedron Lett.* **1996**, *37*, 8293; c) Newkome, G. R., He, E. F., Godinez, L. A., *Macromolecules* **1998**, *31*, 4382; d) Kawa, M., Fréchet, J. M. J., *Chem. Mater.* **1998**, *10*, 286; e) Plevoets, M., Vogtle, F., De Cola, L., Balzani, V., *New J. Chem.* **1999**, *23*, 63; f) Enomoto, M., Aida, T., *J. Am. Chem. Soc.* **1999**, *121*, 874; g) Hawker, C., Fréchet, J. M. J., *Chem. Commun.* **1990**, 1010; h) Uhrich, K. E., Fréchet, J. M. J., *J. Chem. Soc. Perk. Trans. 1* **1992**, 1623; i) Hawker, C. J., Fréchet, J. M. J., *J. Chem. Soc. Perk. Trans. 1* **1992**, 2459; j) Wooley, K. L., *J. Am. Chem. Soc.* **1993**, *115*, 9836; k) Chessa, G., Scrivanti, A., *J. Chem. Soc. Perk. Trans. 1* **1996**, 307; l) Ashton, P. R., Boyd, S. E., Brown, C. L., Jayaraman, N., Nepogodiev, S. A., Stoddart, J. F., *Chem. Eur. J.* **1996**, *2*, 1115; m) Leon, J. W., Kawa, M., Fréchet, J. M. J., *J. Am. Chem. Soc.* **1996**, *118*, 8847; n) Amabilino, D. B., Ashton, P. R., Balzani, V., Brown, C. L., Credi, A., Fréchet, J. M. J., Leon, J. W., Raymo, F. M., Spencer, N., Stoddart, J. F., Venturi, M., *J. Am. Chem. Soc.* **1996**, *118*, 12012; o) Camps, X., Schonberger, H., Hirsch, A., *Chem. Eur. J.* **1997**, *3*, 561; p) Smith, D. K., Diederich, F., *Chem. Commun.* **1998**, 2501; q) Ritzen, A., Frejd, T., *Chem. Commun.* **1999**, 207; r) Sartor, V., Djakovitch, L., Fillaut, J. L., Moulines, F., Neveu, F., Marvaud, V., Guittard, J., Blais, J. C., Astruc, D., *J. Am. Chem. Soc.* **1999**, *121*, 2929.
- [12] Zimmerman, S. C., Zeng, F. W., Reichert, D. E. C., Kolotuchin, S. V., *Science* **1996**, *271*, 1095.
- [13] a) Huck, W. T. S., Hulst, R., Timmerman, P., van Veggel, F. C. J. M., Reinhoudt, D. N., *Angew. Chem. Int. Ed.* **1997**, *36*, 1006; b) Wang, Y., Zeng, F. W., Zimmerman, S. C., *Tetrahedron Lett.* **1997**, *38*, 5459; c) Freeman, A. W., Vreekamp, R., Fréchet, J. M. J., *Abstr. Pap. Am. Chem. Soc.* **1997**, *214*, 128; d) Percec, V., Cho, W. D., Mosier, P. E., Ungar, G., Yearley, D. J. P., *J. Am. Chem. Soc.* **1998**, *120*, 11061; e) Suarez, M., Lehn, J. M., Zimmerman, S. C., Skoulios, A., Heinrich, B., *J. Am. Chem. Soc.* **1998**, *120*, 9526.

- [14] McNerny, D. Q. Dendron Avidity Platforms with Orthogonal Focal Point Coupling Site. University of Michigan, **2010**.
- [15] Caminade, A.-M., Laurent, R., Delavaux-Nicot, B., Majoral, J.-P., *New J. Chem.* **2012**, *36*, 217.
- [16] Sánchez-Nieves, J., Fransen, P., Pulido, D., Lorente, R., Muñoz-Fernández, M. A., Albericio, F., Royo, M., Gómez, R., de la Mata, F. J., *Eur. J. Med. Chem.* **2014**, *76*, 43.
- [17] Percec, V., Leowanawat, P., Sun, H.-J., Kulikov, O., Nusbaum, C. D., Tran, T. M., Bertin, A., Wilson, D. A., Peterca, M., Zhang, S., Kamat, N. P., Vargo, K., Mook, D., Johnston, E. D., Hammer, D. A., Pochan, D. J., Chen, Y., Chabre, Y. M., Shiao, T. C., Bergeron-Brlek, M., Andre, S., Roy, R., Gabius, H.-J., Heiney, P. A., *J. Am. Chem. Soc.* **2013**, *135*, 9055.
- [18] a) Wooley, K. L., *J. Am. Chem. Soc.* **1993**, *115*, 11496; b) Pesak, D. J., Moore, J. S., *Tetrahedron* **1997**, *53*, 15331.
- [19] Goodwin, A. P., Lam, S. S., Fréchet, J. M. J., *J. Am. Chem. Soc.* **2007**, *129*, 6994.
- [20] a) Cheung, S.-Y., Chow, H.-F., *Chem. Eur. J.* **2009**, *15*, 8874; b) Chow, H. F., Leung, C. F., *Macromolecules* **2004**, *37*, 3595; c) Newkome, G. R., Kim, H. J., Moorefield, C. N., Maddi, H., Yoo, K. S., *Macromolecules* **2003**, *36*, 4345; d) Steffensen, M. B., Simanek, E. E., *Angew. Chem. Int. Ed.* **2004**, *43*, 5178; e) Grayson, S. M., Fréchet, J. M. J., *J. Am. Chem. Soc.* **2000**, *122*, 10335.
- [21] a) Newkome, G. R., Shreiner, C. D., *Polymer* **2008**, *49*, 1; b) Singh, P., *Bioconjugate Chem.* **1998**, *9*, 54; c) Gong, A. J., Fan, Q. H., Chen, Y. M., Liu, H. W., Chen, C. F., Xi, F., *J. Mol. Catal. A. Chem.* **2000**, *159*, 225; d) Oh, S. K., Kim, Y. G., Ye, H. C., Crooks, R. M., *Langmuir* **2003**, *19*, 10420; e) Baker, J. R., Quintana, A., Piehler, L., Banazak-Holl, M., Tomalia, D., Raczka, E., *Biomedical Microdevices* **2001**, *3*, 61.
- [22] Liu, Y., Chiu, G. N. C., *Biomacromolecules* **2013**, *14*, 4226.
- [23] Páez, J. I., Martinelli, M., Brunetti, V., Strumia, M. C., *Polymers* **2012**, *4*, 355.

- [24] a) Gitsov, I., Wooley, K. L., Fréchet, J. M. J., *Angew. Chem. Int. Ed.* **1992**, *31*, 1200; b) Gitsov, I., Fréchet, J. M. J., *Macromolecules* **1994**, *27*, 7309.
- [25] Schluter, A. D., Rabe, J. P., *Angew. Chem. Int. Ed.* **2000**, *39*, 864.
- [26] a) Daniel, M. C., Ruiz, J., Nlate, S., Palumbo, J., Blais, J. C., Astruc, D., *Chem. Commun.* **2001**, 2000; b) Kim, M. K., Jeon, Y. M., Jeon, W. S., Kim, H. J., Hong, S. G., Park, C. G., Kim, K., *Chem. Commun.* **2001**, 667; c) Daniel, M. C., Ruiz, J., Nlate, S., Blais, J. C., Astruc, D., *J. Am. Chem. Soc.* **2003**, *125*, 2617; d) Jiang, G. H., Wang, L., Chen, W. X., *Mater. Lett.* **2007**, *61*, 278; e) Cho, T. J., Zangmeister, R. A., MacCuspie, R. I., Patri, A. K., Hackley, V. A., *Chem. Mater.* **2011**, *23*, 2665; f) de Rivera, F. G., Rodríguez, L. I., Rossell, O., Seco, M., Divins, N. J., Casanova, I., Llorca, J., *J. Organomet. Chem.* **2011**, *696*, 2287.
- [27] Tomalia, D. A., Kirchoff, P. M. EP234408A2, **1987**.
- [28] a) Sun, Y.-P., Huang, W., Lin, Y., Fu, K., Kitaygorodskiy, A., Riddle, L. A., Yu, Y. J., Carroll, D. L., *Chem. Mater.* **2001**, *13*, 2864; b) Hwang, S.-H., Moorefield, C. N., Wang, P., Jeong, K.-U., Cheng, S. Z. D., Kotta, K. K., Newkome, G. R., *J. Am. Chem. Soc.* **2006**, *128*, 7505; c) Moore, E., Wang, P.-Y., Vogt, A. P., Gibson, C. T., Haridas, V., Voelcker, N. H., *RSC Adv.* **2012**, *2*, 1289.
- [29] Campidelli, S., Sooambar, C., Lozano Díaz, E., Ehli, C., Guldi, D. M., Prato, M., *J. Am. Chem. Soc.* **2006**, *128*, 12544.
- [30] Woo, S., Lee, Y., Sunkara, V., Cheedarala, R. K., Shin, H. S., Choi, H. C., Park, J. W., *Langmuir* **2007**, *23*, 11373.
- [31] a) Tsubokawa, N., Ichioka, H., Satoh, T., Hayashi, S., Fujiki, K., *React. Funct. Polym.* **1998**, *37*, 75; b) Radu, D. R., Lai, C.-Y., Jeftinija, K., Rowe, E. W., Jeftinija, S., Lin, V. S. Y., *J. Am. Chem. Soc.* **2004**, *126*, 13216.
- [32] Zhao, F.-G., Li, W.-S., *J. Mater. Chem.* **2012**, *22*, 3082.
- [33] Gopidas, K. R., Whitesell, J. K., Fox, M. A., *J. Am. Chem. Soc.* **2003**, *125*, 6491.
- [34] a) Buathong, S., Ung, D., Daou, T. J., Ulhaq-Bouillet, C., Pourroy, G., Guillon, D., Ivanova, L., Bernhardt, I., Begin-Colin, S., Donnio, B., *J. Phys.*

- Chem. C* **2009**, *113*, 12201; b) Daou, T. J., Pourroy, G., Greneche, J. M., Bertin, A., Felder-Flesch, D., Begin-Colin, S., *Dalton Trans.* **2009**, 4442; c) Basly, B., Felder-Flesch, D., Perriat, P., Billotey, C., Taleb, J., Pourroy, G., Begin-Colin, S., *Chem. Commun.* **2010**, *46*, 985; d) Kim, S. T., Chompoosor, A., Yeh, Y. C., Agasti, S. S., Solfiell, D. J., Rotello, V. M., *Small* **2012**, *8*, 3253; e) Páez, J. I., Coronado, E. A., Strumia, M. C., *J. Colloid Interf. Sci.* **2012**, *384*, 10.
- [35] a) Ribeiro, S., Rijpkema, S., Durrani, Z., Florence, A., *Int. J. Pharm.* **2007**, *331*, 228; b) Liang, B., Deng, J. J., Yuan, F., Yang, N., Li, W., Yin, J. R., Pu, S. X., Xie, L. C., Gao, C., Zhang, L. M., *Carbohydr. Polym.* **2013**, *94*, 185; c) Gupta, S., Schade, B., Kumar, S., Bottcher, C., Sharma, S. K., Haag, R., *Small* **2013**, *9*, 894; d) Rousseau, G., Fensterbank, H., Baczko, K., Cano, M., Allard, E., Larpent, C., *Macromolecules* **2012**, *45*, 3513.
- [36] a) Krska, S. W., Seyferth, D., *J. Am. Chem. Soc.* **1998**, *120*, 3604; b) Alonso, B., Cuadrado, I., Morán, M., Losada, J., *Chem. Commun.* **1994**, 2575; c) van der Made, A. W., van Leeuwen, P. W. N. M., De Wilde, J. C., Brandes, R. A. C., *Adv. Mater.* **1993**, *5*, 466; d) Seyferth, D., Son, D. Y., *Organometallics* **1994**, *13*, 2682; e) Sánchez-Nieves, J., Ortega, P., Muñoz-Fernández, M. Á., Gómez, R., de la Mata, F. J., *Tetrahedron* **2010**, *66*, 9203.
- [37] Van der Made, A. W., Van Leeuwen, P. W. N. M., *Chem. Commun.* **1992**, 1400.
- [38] Zhou, L. L., Roovers, J., *Macromolecules* **1993**, *26*, 963.
- [39] Lobete, F., Cuadrado, I., Casado, C. M., Alonso, B., Morán, M., Losada, J., *J. Organomet. Chem.* **1996**, *509*, 109.
- [40] Van Heerbeek, R., Reek, J. N. H., Kamer, P. C. J., Van Leeuwen, P. W. N. M., *Tetrahedron Lett.* **1999**, *40*, 7127.
- [41] a) Andrés, R., de Jesús, E., de la Mata, F. J., Flores, J. C., Gómez, R., *Eur. J. Inorg. Chem.* **2005**, 3742; b) Andrés, R., de Jesús, E., Fierro, J. L. G., Terreros, P., *New J. Chem.* **2011**, *35*, 2203; c) Rodríguez, L. I., Rossell, O., Seco, M., Muller, G., *Organometallics* **2008**, *27*, 1328; d) Vigo, S., Andrés, R., Gómez-Sal, P., de la Mata, F. J., de Jesús, E., *J. Organomet. Chem.* **2012**,

- 717, 88; e) Tuchbreiter, A., Werner, H., Gade, L. H., *Dalton Trans.* **2005**, 1394.
- [42] Amore, A., van Heerbeek, R., Zeep, N., van Esch, J., Reek, J. N. H., Hiemstra, H., van Maarseen, J. H., *J. Org. Chem.* **2006**, *71*, 1851.
- [43] Galán, M., Fuentes-Paniagua, E., de la Mata, F. J., Gómez, R., *Organometallics* **2014**, *33*, 3977.
- [44] a) Bermejo, J. F., Ortega, P., Chonco, L., Eritja, R., Samaniego, R., Müllner, M., de Jesús, E., de la Mata, F. J., Flores, J. C., Gómez, R., Muñoz-Fernández, A., *Chem. Eur. J.* **2007**, *13*, 483; b) Galán, M., Sánchez-Rodríguez, J., Cangioti, M., García-Gallego, S., Jiménez, J. L., Gómez, R., Ottaviani, M. F., Muñoz-Fernández, M. A., de la Mata, F. J., *Curr. Med. Chem.* **2012**, *19*, 4984; c) Chonco, L., Bermejo-Martín, J. F., Ortega, P., Shcharbin, D., Pedziwiatr, E., Klajnert, B., de la Mata, F. J., Eritja, R., Gómez, R., Bryszewska, M., Muñoz-Fernández, M. A., *Org. Biomol. Chem.* **2007**, *5*, 1886; d) Ortega, P., Bermejo, J. F., Chonco, L., de Jesús, E., de la Mata, F. J., Fernández, G., Flores, J. C., Gómez, R., Serramía, M. J., Muñoz-Fernández, M. A., *Eur. J. Inorg. Chem.* **2006**, 1388.
- [45] a) Jiménez, J. L., Clemente, M. I., Weber, N. D., Sánchez, J., Ortega, P., de la Mata, F. J., Gómez, R., García, D., López-Fernández, L. A., Muñoz-Fernández, M. A., *Biodrugs* **2010**, *24*, 331; b) Weber, N., Ortega, P., Clemente, M. I., Shcharbin, D., Bryszewska, M., de la Mata, F. J., Gómez, R., Muñoz-Fernández, M. A., *J. Control. Release* **2008**, *132*, 55.
- [46] Rasines, B., Hernández-Ros, J. M., de las Cuevas, N., Copa-Patiño, J. L., Soliveri, J., Muñoz-Fernández, M. A., Gómez, R., de la Mata, F. J., *Dalton Trans.* **2009**, 8704.
- [47] de las Cuevas, N., García-Gallego, S., Rasines, B., de la Mata, F. J., Guijarro, L. G., Muñoz-Fernández, M. A., Gómez, R., *Curr. Med. Chem.* **2012**, *19*, 5052.
- [48] a) Arnáiz, E. Dendrímeros carbosilano vía "click-chemistry" para aplicaciones biomédicas. Tesis Doctoral, Universidad de Alcalá, Alcalá de Henares, **2012**; b) Arnáiz, E., Doucedo, L. I., García-Gallego, S., Urbiola, K.,

- Gómez, R., Tros de Ilarduya, C., de la Mata, F. J., *Mol. Pharmaceut.* **2012**, *9*, 433.
- [49] Rissing, C., Son, D. Y., *Organometallics* **2008**, *27*, 5394.
- [50] Kolb, H. C., Finn, M. G., Sharpless, K. B., *Angew. Chem. Int. Ed.* **2001**, *40*, 2004.
- [51] a) Malkoch, M., Schleicher, K., Drockenmuller, E., Hawker, C. J., Russell, T. P., Wu, P., Fokin, V. V., *Macromolecules* **2005**, *38*, 3663; b) Antoni, P., Robb, M. J., Campos, L., Montanez, M., Hult, A., Malmström, E., Malkoch, M., Hawker, C. J., *Macromolecules* **2010**, *43*, 6625.
- [52] Rissing, C., Son, D. Y., *Organometallics* **2009**, *28*, 3167.
- [53] Martínez-Olid, F., Benito, J. M., Flores, J. C., de Jesús, E., *Isr. J. Chem.* **2009**, *49*, 99.
- [54] Rissing, C., Rains, M., Son, D. Y., *J. Inorg. Organomet. P.* **2010**, *20*, 616.
- [55] van Dijk, M., Rijkers, D. T. S., Liskamp, R. M. J., van Nostrum, C. F., Hennink, W. E., *Bioconjugate Chem.* **2009**, *20*, 2001.
- [56] Strasak, T., Cermak, J., Sykora, J., Horsky, J., Walterova, Z., Jaroschik, F., Harakat, D., *Organometallics* **2012**, *31*, 6779.
- [57] El Kazzouli, S., Mignani, S., Bousmina, M., Majoral, J. P., *New J. Chem.* **2012**, *36*, 227.
- [58] Kaiser, E., Colescott, R. L., Bossinger, C. D., Cook, P. I., *Anal. Biochem.* **1970**, *34*, 595.
- [59] a) Sjoebäck, R., Nygren, J., Kubista, M., *Spectrochim. Acta, Part A* **1995**, *51A*, L7; b) Klonis, N., Sawyer, W. H., *J. Fluoresc.* **1996**, *6*, 147.
- [60] a) Aarons, L., Grennan, D. M., Siddiqui, M., *Eur. J. Clin. Pharmacol.* **1983**, *25*, 815; b) Hage, D. S., Noctor, T. A. G., Wainer, I. W., *J. Chromatogr. A* **1995**, *693*, 23.
- [61] Milani, M., Iacobelli, P., *Obstet. Gynecol.* **2012**, *2012*, 6.
- [62] Dall, L., Peterson, S., Simmons, T., Dall, A., *Cutis* **2005**, *75*, 177.
- [63] Scheinfeld, N., *Curr. Opin. Investig. Drugs* **2009**, *10*, 474.
- [64] a) Al-Janabi, A., *J. Glob. Infect. Dis.* **2010**, *2*, 105; b) Elvers, K. T., Wright, S. J. L., *Lett. Appl. Microbiol.* **1995**, *20*, 82; c) Núñez, C., Fernández-

- Lodeiro, A., Fernández-Lodeiro, J., Carballo, J., Capelo, J. L., Lodeiro, C., *Inorg. Chem. Commun.* **2014**, *45*, 61; d) Chowdhury, B., Roy, D., Chavan, U., Mukhopadhyay, S., *Med. Sci. Res.* **1996**, *24*, 801.
- [65] Gabriel, S., *Ber. Dtsch. Chem. Ges.* **1887**, *20*.
- [66] a) Natarajan, B., Gupta, S., Jayaraj, N., Ramamurthy, V., Jayaraman, N., *J. Org. Chem.* **2012**, *77*, 2219; b) Natarajan, B., Jayaraman, N., *J. Organomet. Chem.* **2011**, *696*, 722; c) Kamal, A., Balakishan, G., Rajender, Sreekanth, K., Reddy, D. R., Reddy, M. K., Sen, S., Kurian, N., Juvekar, A. S., Zingde, S. M., *Lett. Drug Des. Discov.* **2008**, *5*, 424.
- [67] Beadle, B. M., Nicholas, R. A., Shoichet, B. K., *Protein Sci.* **2001**, *10*, 1254.
- [68] Ortega, P., Copa-Patiño, J. L., Muñoz-Fernández, M. A., Soliveri, J., Gómez, R., de la Mata, F. J., *Org. Biomol. Chem.* **2008**, *6*, 3264.
- [69] Werner, R. G., *Arzneim. Forsch.* **2007**, *57*, 623.
- [70] Llinas, A., Vilanova, B., Muñoz, F., Donoso, J., *J. Mol. Catal. A. Chem.* **2001**, *175*, 3.
- [71] a) Govender, P., Therrien, B., Smith, G. S., *Eur. J. Inorg. Chem.* **2012**, *2012*, 2853; b) Kikkeri, R., García-Rubio, I., Seeberger, P., *Chem. Commun.* **2009**, 235.
- [72] García-Gallego, S. Síntesis de complejos metálicos basados en ligandos nitrogenados polianiónicos. Aplicaciones como agentes antivirales. Tesis Doctoral, Universidad de Alcalá, **2013**.
- [73] Boisselier, E., Astruc, D., *Chem. Soc. Rev.* **2009**, *38*, 1759.
- [74] a) Hermes, J. P., Sander, F., Peterle, T., Urbani, R., Pfohl, T., Thompson, D., Mayor, M., *Chem. Eur. J.* **2011**, *17*, 13473; b) Majeed, S., Nanda, A., Thirunavukarasu, K., *Int. J. PharmTech Res.* **2014**, *6*, 1049.
- [75] Egusa, S., Ebrahim, Q., Mahfouz, R. Z., Sauntharajah, Y., *Exp. Biol. Med.* **2014**, *239*, 853.
- [76] a) Sugden, M. W., Richardson, T. H., Leggett, G., *Langmuir* **2010**, *26*, 4331; b) Gao, J., Huang, X., Liu, H., Zan, F., Ren, J., *Langmuir* **2012**, *28*, 4464.
- [77] a) Shi, X., Sun, K., James R. Baker, J., *J. Phys. Chem. B* **2008**, *112*, 8251; b) Esumi, K., Suzuki, A., Aihara, N., Usui, K., Torigoe, K., *Langmuir* **1998**, *14*,

- 3157; c) Sun, X., Jiang, X., Dong, S., Wang, E., *Macromol. Rapid Commun.* **2003**, *24*, 1024; d) Dong, P., Xin, J., Yang, X., Jia, J., Wu, W., Li, J., *RSC Adv.* **2014**, *4*, 44872.
- [78] Galán-Herranz, M. Síntesis de sistemas dendríticos aniónicos de naturaleza carbosilano mediante química *click* tiol-eno y su aplicación como agentes antivirales frente a VIH. Tesis Doctoral, Universidad de Alcalá, Alcalá de Henares, **2014**.
- [79] Turnbull, W. B., Stoddart, J. F., *Rev. Mol. Biotech.* **2002**, *90*, 231.
- [80] Pieters, R. J., *Drug Discov. Today* **2009**, *6*, e27.
- [81] Moreno Pinilla, S. Nanosistemas dendríticos de estructura carbosilano bifuncionalizados para su aplicación en biomedicina. Universidad de Alcalá, **2016**.
- [82] a) Anderson, J. M., Shive, M. S., *Adv. Drug Deliver. Rev.* **1997**, *28*, 5; b) Dunne, M., Corrigan, O. I., Ramtoola, Z., *Biomaterials* **2000**, *21*, 1659.
- [83] Fornaguera, C., Grijalvo, S., Galán, M., Fuentes-Paniagua, E., de la Mata, F. J., Gómez, R., Eritja, R., Calderó, G., Solans, C., *Int. J. Pharm.* **2014**.
- [84] a) Langer, R., *Science* **1990**, *249*, 1527; b) Uludag, H., De Vos, P., Tresco, P. A., *Adv. Drug Deliver. Rev.* **2000**, *42*, 29.
- [85] Viitala, R., Jokinen, M., Rosenholm, J. B., *Int. J. Pharm.* **2007**, *336*, 382.
- [86] Vallet-Regí, M., Ramila, A., del Real, R. P., Pérez-Pariente, J., *Chem. Mater.* **2001**, *13*, 308.
- [87] a) Pedziwiatr-Werbicka, E., Shcharbin, D., Maly, J., Maly, M., Zaborski, M., Gabara, B., Ortega, P., de la Mata, F. J., Gómez, R., Muñoz-Fernández, M. A., Klajnert, B., Bryszewska, M., *J. Biomed. Nanotechnol.* **2012**, *8*, 57; b) Shcharbin, D., Pedziwiatr, E., Nowacka, O., Kumar, M., Zaborski, M., Ortega, P., de la Mata, F. J., Gómez, R., Muñoz-Fernandez, M. A., Bryszewska, M., *Colloid Surface B* **2011**, *83*, 388.

Capítulo 3

Aplicaciones biomédicas
de las macromoléculas
dendríticas catiónicas

3.1 Introducción y objetivos

3.1.1 Dendrímeros catiónicos en aplicaciones biomédicas

Los materiales poliméricos se han utilizado como sistemas portadores de fármacos, estructuras en ingeniería de tejidos, etc.¹ Debido a la necesidad de obtener moléculas con propiedades bien definidas, los dendrímeros son candidatos idóneos para sustituir a los materiales poliméricos por su uniformidad estructural y la versatilidad con la que sus esqueletos y superficies pueden ser modificados, además de la posibilidad de presentar determinados patrones de comportamiento asociados a su multivalencia.

Los dendrímeros se han utilizado en numerosos campos tal y como ya se comentó en el Capítulo 1.² El uso de los dendrímeros en aplicaciones biomédicas requiere que sean relativamente inertes, con objeto de evitar reacciones secundarias con el organismo, y que sean solubles en agua, por lo que se deben buscar dendrímeros con propiedades adecuadas de solubilidad y biocompatibilidad.

Las macromoléculas dendríticas catiónicas descritas en el Capítulo 2 de este trabajo se han empleado como agentes microbicidas y como agentes de transporte no viral, por lo que a continuación nos centraremos en dichas aplicaciones.

3.1.2 Dendrímeros catiónicos como agentes terapéuticos

La estabilidad de los dendrímeros, junto a su flexibilidad sintética, los convierten en candidatos ideales para ser probados como fármacos en sí mismos mediante la introducción de los grupos funcionales adecuados en la periferia dendrítica. Además, la multivalencia característica de los dendrímeros puede generar efectos sinérgicos interesantes. Mientras que los dendrímeros aniónicos y los glicodendrímeros poseen propiedades antivirales contra gripe, herpes o VIH, entre otros,³ los dendrímeros catiónicos poseen actividad biocida frente a

bacterias y parásitos,⁴ aunque los microorganismos más comúnmente tratados han sido las bacterias.

3.1.2.1 Dendrímeros catiónicos como agentes antibacterianos

Algunas bacterias se encuentran entre los agentes infecciosos más comunes, causando una gran variedad de enfermedades, siendo todavía una de las principales causas de mortalidad en países en desarrollo y origen de diversas epidemias que se extienden fácilmente y de forma periódica entre la población. Además, el uso extendido y, a veces, abusivo de antibióticos en países desarrollados, ha contribuido a la aparición de resistencias bacterianas, lo que ha forzado la búsqueda de nuevas estrategias para combatir estas infecciones. Por ello, ha surgido el interés en desarrollar moléculas de tipo polimérico que contengan grupos funcionales con actividad biocida, como por ejemplo agentes oxidantes como los peróxidos,⁵ metales como el oro, la plata o el cobre,⁶ algunos compuestos orgánicos como el formaldehído o las isotiazolonas⁷ y compuestos catiónicos como las sales de amonio cuaternarias.⁸

Las sales de amonio cuaternarias presentan una capacidad antibacteriana de amplio espectro y se sitúan habitualmente en la superficie de polímeros y dendrímeros catiónicos.⁸⁻⁹ Aunque el mecanismo concreto de actuación de dichos derivados es desconocido, está bastante aceptado que su capacidad bactericida se debe a la gran concentración de grupos catiónicos que podrían desplazar iones fundamentales de la membrana celular, como Ca^{2+} , desestabilizándola (Figura 3.1). Además, la presencia de interacciones hidrofóbicas entre los esqueletos de los compuestos con grupos catiónicos y los componentes de la membrana podría producir un efecto positivo sobre la capacidad antibacteriana.^{9d} Algunos estudios corroboran este mecanismo, como por ejemplo el desarrollado por Wang y col. con dendrímeros PAMAM, que mostró que el tratamiento de *E. coli* afectaba a la membrana celular mediante estudios de microscopía electrónica de barrido (SEM) y de integridad de membrana.¹⁰

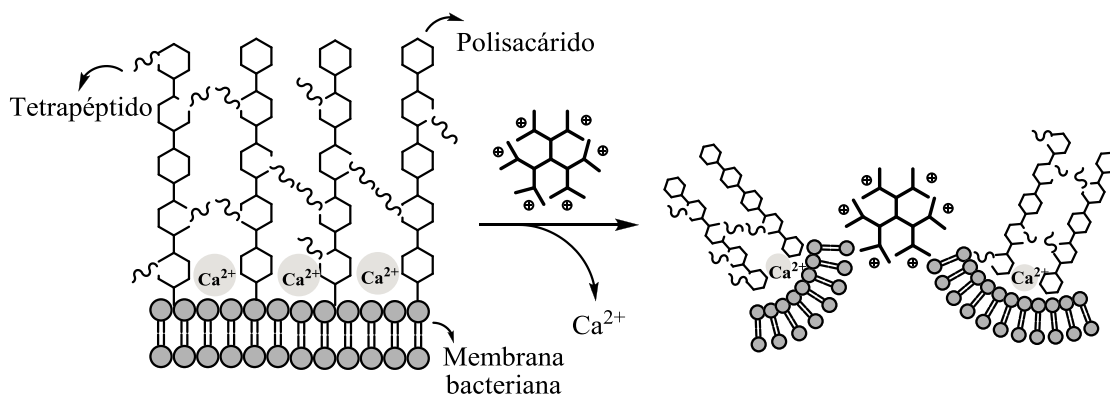


Figura 3.1 Mecanismo propuesto para la actividad antibacteriana de compuestos poliméricos catiónicos.

Una característica muy importante de los dendrímeros es que, cuando actúan como microbicidas, son más potentes que las moléculas similares monocatónicas. Esta mayor actividad probablemente se deba a que los dendrímeros ofrecen una alta concentración local de grupos funcionales y una estructura compacta con baja polidispersidad. Además, una ventaja añadida es que permiten realizar estudios estructura-actividad de manera más sencilla que los polímeros u otras moléculas de mayor polidispersidad.¹¹

Si los grupos funcionales tienen actividad microbicida, es de esperar que ésta aumente con la concentración de los mismos, es decir, con la generación. No obstante, el tamaño del dendrímero es importante, ya que se ha demostrado que la acción de los mismos se basa en la desintegración de las membranas celulares, para lo cual los dendrímeros deben interactuar con la membrana y, por ello, dendrímeros más impedidos estéricamente podrían tener mayor dificultad para ejercer la acción antibacteriana. Por lo tanto, los dendrímeros de generaciones superiores podrían tener menor actividad, a pesar de poseer un mayor número de cargas en la periferia dendrítica.¹²

Debido a esta controversia entre tamaño y multivalencia, ha surgido la necesidad de intentar establecer algunas tendencias en la actividad antibacteriana de dendrímeros, evaluando la influencia en la misma de factores como el núcleo dendrítico, el tipo de grupos periféricos, su carga o su estructura tridimensional. Un estudio realizado por Cooper y col. muestra la influencia de la longitud de la

cadena alquílica de dendrímeros PPI con grupos $\text{-NMe}_2\text{R}^+$ (Figura 3.2), encontrando que la mejor actividad antibacteriana la presenta el dendrímero cuya cadena alquílica contiene 10 eslabones y contraaniones bromuro.¹³ Hay que indicar que estos resultados pueden ser diferentes en otras estructuras dendríticas con un esqueleto de carácter hidrofóbico.

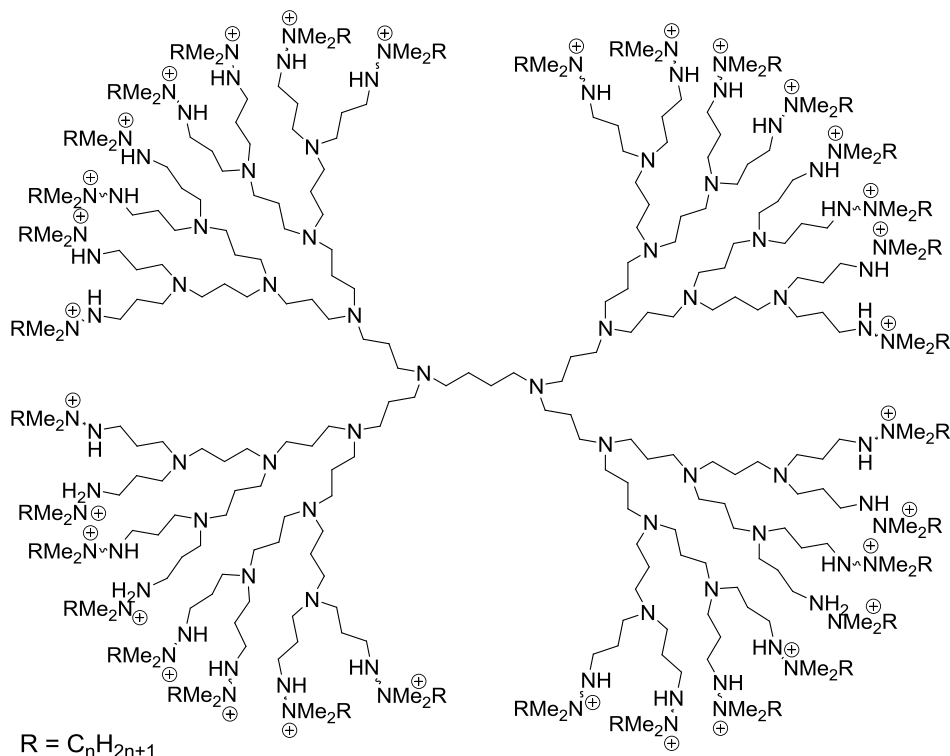


Figura 3.2 Dendrimeros PPI sintetizados por Cooper y col.

En algunas ocasiones la citotoxicidad de los dendrímeros catiónicos podría dificultar su uso como agentes antibacterianos. Teniendo en cuenta que la toxicidad de los dendrímeros catiónicos proviene principalmente de los cationes superficiales, para tratar de solventar este problema se han realizado modificaciones sobre la superficie dendrítica de forma que los grupos catiónicos queden ocultos. Así, el recubrimiento de las aminas externas en dendrímeros PPI o PAMAM con manosas o N-boc-glicina,¹⁴ con grupos guanidinio o hidroxilo,¹⁵ lauril,¹⁶ polietilenglicol¹⁶⁻¹⁷ o aceto,¹⁸ disminuye su toxicidad. La reducción de la toxicidad producida por el recubrimiento de los grupos periféricos ha permitido la evaluación *in vivo* de dendrímeros PAMAM recubiertos con grupos hidroxilo contra la coriarnionitis.¹⁰

3.1.2.2 Dendrímeros de tipo carbosilano como agentes antibacterianos

Los dendrímeros carbosilano catiónicos también han demostrado poseer capacidad antibacteriana frente a bacterias gram positivas (*Staphylococcus aureus*) y gram negativas (*Escherichia coli*). En este tipo de dendrímeros, la naturaleza hidrofóbica del esqueleto podría favorecer la biopermeabilidad y la interacción de los dendrímeros con la membrana bacteriana.

Estudios realizados previamente muestran que la actividad antibacteriana de los dendrímeros carbosilano tiene una gran dependencia de la generación, así como que la actividad de los mismos es muy superior a modelos monofuncionales corroborando la importancia de la multivalencia.¹⁹ Si bien en todos los casos se encontró una mayor actividad frente a bacterias de tipo gram positivo, en concordancia con la presencia de una pared celular más compleja en bacterias gram negativas, no siempre coincidía la generación más activa frente a *S. aureus* y *E. coli*. Estos resultados pueden deberse a la influencia de la carga superficial, así como a la biopermeabilidad, por lo que es posible que se precise un dendrímero de mayor generación frente a bacterias de tipo gram negativo con el fin de que la mayor densidad de carga superficial produzca la disrupción de la membrana externa, antes de que entren en juego procesos de biopermeabilidad.^{12a}

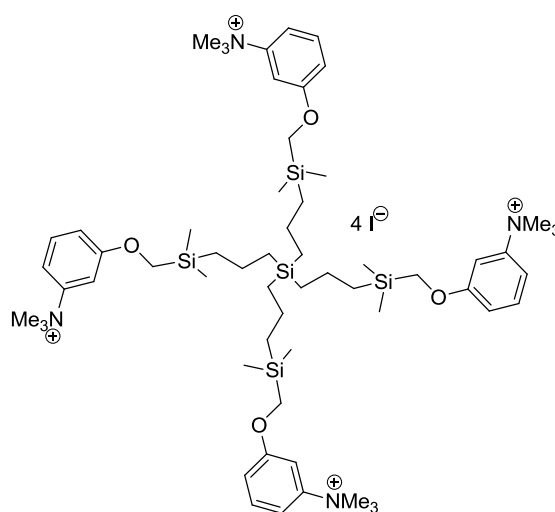


Figura 3.3 Estructura de un dendrímero de tipo carbosilano con actividad como agente antibacteriano.

3.1.3 Dendrimeros catiónicos como agentes de transporte

Los dendrimeros pueden actuar como agentes de transporte de numerosas moléculas de interés biológico. Dicho transporte puede ser a través de interacciones electrostáticas, formación de puentes de hidrógeno, interacciones hidrofóbicas, encapsulamiento de la molécula en el interior dendrítico, normalmente debido a la presencia de bolsillos hidrofóbicos en el interior dendrítico o unión covalente entre ambos derivados (Figura 3.4).

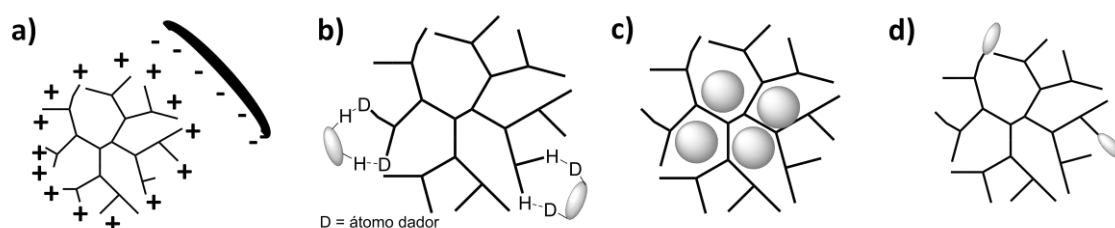


Figura 3.4 Formas de unión de una molécula a un dendrimer a) por interacción electrostática, b) por puentes de hidrógeno, c) por encapsulamiento y d) por unión covalente.

Muchas moléculas bioactivas son incapaces de llegar con eficacia al tejido celular donde podrían ejercer su efecto terapéutico. Esto puede ser debido a numerosas causas: hidrofobia, falta de especificidad tisular, degradación en medios biológicos, incapacidad para atravesar barreras biológicas, etc. Todo ello ha obligado al desarrollo de sistemas para evitar dichos problemas, que incluyen liposomas, nanopartículas, polímeros hiperramificados, etc. Sin embargo los dendrimeros presentan ciertas ventajas, principalmente debido a su monodispersidad y polivalencia, tal y como se ha mencionado anteriormente.

3.1.3.1 Agentes de transporte de material nucleico

En los últimos 15 años ha habido un gran interés en el uso de material genético para el desarrollo de tratamientos contra virus, cáncer o trastornos genéticos, entre otros. Dicho tratamiento puede realizarse por modificación de la expresión de un gen, por sustitución o reparación de un gen erróneo, por alteración directa de su expresión o mediante la utilización de material genético con propiedades terapéuticas *per se*.²⁰

Entre los materiales que se pueden transfectar al interior celular con el fin de modificar la expresión génica están los plásmidos,²⁰ que son moléculas de ADN circular de origen bacteriano, en las cuales es posible insertar un gen promotor y un gen terapéutico. Dentro del núcleo celular, el ADNp (ADN plasmídico), gracias al promotor, permite la expresión del gen terapéutico, que puede ser traducido a un ARN mensajero (ARNm), que será el encargado de salir al citoplasma celular para expresar dicho gen en forma de una proteína funcional.

En otras ocasiones se pueden utilizar oligonucleótidos (ODN),²¹ que son secuencias de ácidos nucleicos (ADN o ARN) de un tamaño inferior a 50 pares de bases, capaces de actuar mediante tres mecanismos:

i. Formación de ADN triplex: un ODN se une a una parte de una molécula de ADN de doble cadena que contiene un gen diana. Esta asociación de tres cadenas inhibe la transcripción del gen a ARNm evitando que se exprese.

ii. Unión de un factor de transcripción: los factores de transcripción son proteínas que participan en la regulación de la transcripción de la cadena de ADN a ARNm, uniéndose a secuencias concretas de ADN, a otros factores de transcripción o a la ARN polimerasa. La unión de un ODN a un factor de transcripción evita que se inicie el proceso de transcripción del ADN a ARNm.

iii. Silenciamiento de ARN mensajero: la interferencia con ARN es un proceso de control de la expresión génica mediante el silenciamiento de un gen por interferencia de una secuencia específica. Fue descubierto por Fire y Mello en 1998 cuando consiguieron silenciar ciertos genes en *Caenorhabditis elegans*.²² En este proceso se usa un pequeño fragmento de ARN de doble cadena (ARNpi) capaz de estimular la degradación específica de un fragmento de ARN con una secuencia complementaria a una de las cadenas del ARN.²³ La habilidad de estos fragmentos de material genético para interferir en estadios tempranos de la expresión génica, ha llamado la atención de la comunidad científica para su empleo como agentes terapéuticos para el tratamiento del cáncer y otras enfermedades similares.²⁴

En ocasiones el material genético posee actividad terapéutica por sí mismo. Esto ocurre cuando presenta patrones de metilación distintos a los mamíferos.²⁵ Originalmente se utilizó material genético bacteriano o viral,²⁶ aunque también se puede utilizar material sintético, permitiendo el tratamiento de enfermedades como el cáncer.²⁷

No obstante, los oligonucleóticos presentan baja resistencia a la degradación enzimática y baja permeabilidad a través de la membrana celular, factores que han restringido su aplicación *in vivo*. Consecuentemente, la obtención de sistemas de transporte que protejan al material nucleico de la degradación en el torrente sanguíneo y facilite su entrada a las células, es uno de los principales retos en su aplicación terapéutica. Los agentes transportadores pueden clasificarse en dos grupos, los de tipo viral y los de tipo no viral.

I. Vectores de tipo viral

A pesar de que los vectores virales han demostrado eficiencia en la transfección en múltiples líneas celulares, su uso tiene algunos inconvenientes, como la generación de respuesta inmune o de mutagénesis, que puede incluso llegar a generar procesos cancerosos al insertar el material genético vírico al azar en la célula huésped. Además existe una gran limitación en el tamaño del material genético a transportar debido al espacio limitado para el transporte de otros genes en el genoma viral. Finalmente, la muerte de un joven de 18 años durante una prueba clínica con vectores de tipo viral en 1999, forzó la búsqueda de nuevas alternativas.²⁸

II. Vectores de tipo no viral

Debido a los inconvenientes del uso de vectores de tipo viral, durante la última década se han desarrollado transportadores no víricos, como liposomas, polímeros y dendrímeros.^{2d; 2g; 29} Dada la naturaleza aniónica de los ácidos nucleicos, debida a la presencia de grupos fosfato en su estructura, los vectores no virales suelen, generalmente, ser catiónicos, o con capacidad de cargarse

positivamente a pH fisiológico, para de este modo, poder establecer interacciones electrostáticas con el ácido nucleico a transportar.

Sin embargo, el mecanismo por el que los agentes de transporte no virales consiguen transportar y transfectar material genético no está claro. Este hecho supone un problema a la hora de realizar un diseño racional de vectores más eficientes. Una alternativa para intentar paliar este problema es variar sistemáticamente la estructura de dichos complejos alterando el radio, la naturaleza y los grupos funcionales del portador de ADN, intentando correlacionar las diferentes especies con su capacidad de transfectar.

Entre los agentes de transporte no viral destacan los liposomas catiónicos, constituidos por una bicapa lipídica (Figura 3.5).³⁰ Además, poseen una mayor versatilidad que los agentes de transporte viral con respecto al tamaño del ADN a transfectar y evitan la respuesta inmune, siendo posible también incluir en su estructura receptores específicos de la membrana lipídica. Sin embargo también tienen otros inconvenientes como su baja solubilidad o el hecho de que su capacidad de transfección disminuye en presencia de suero sanguíneo, debido a que pueden generar interacciones con las proteínas que éste contiene. Además presentan cierto grado de toxicidad celular.

También se han utilizado como agentes transportadores polímeros lineales. Los primeros en ser utilizados fueron los de polilisina, que son estructuras degradables, lo cual impide que se acumulen en el organismo. Sin embargo estos derivados son tóxicos, por lo que fueron sustituidos por polietileniminas, que poseen una menor toxicidad que las polilisinias y una mayor eficacia en la transfección del material nucleico al interior celular. Sin embargo poseen una estructura poco definida, además de una alta polidispersidad.³¹

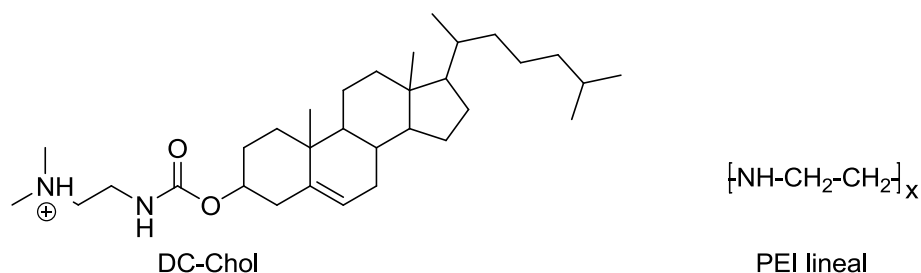


Figura 3.5 Lípido catiónico que sirve de unidad para la formación de liposomas (izq.) y polímero líneal (dcha.) utilizados como agentes de transporte no viral.

Por último, los dendrímeros han resultado ser una alternativa para la transfección de ácidos nucleicos en una gran variedad de células. Las principales ventajas de este tipo de compuestos derivan de sus propiedades fundamentales: su monodispersidad, su estabilidad y su baja viscosidad a pesos moleculares altos.

3.1.3.2 Dendrimeros como agentes de transporte no viral

El primer estudio en el que se utilizaban dendrímeros como transfectantes data de 1993 y, en él, se utilizaban dendrímeros tipo PAMAM.³² En el mismo, Haensler y Szoka demostraron que un fragmento de ADN que contenía los genes de la luciferasa y de la β -galactosidasa podía ser internalizado dentro de las células, constatando una mayor eficacia en la transfección cuando la relación de cargas era de 6:1 (grupos amonio:fosfato), con dendrímeros superiores a la tercera generación. Desde entonces se han realizado numerosos estudios utilizando diferentes tipos de dendrímeros: PPI, polilisina, polifosfohidrazona, triazina, con átomos de fósforo en su estructura, carbosilano, etc. De los estudios realizados se puede concluir que, en general, los dendrímeros más flexibles son capaces de interactuar con mayor facilidad con los ácidos nucleicos, lo que se traduce en mayores tasas de transfección.³³

Puesto que uno de los principales inconvenientes de los vectores de tipo viral es su inmunogenicidad, algunos estudios corroboran la no inmunogenicidad de los dendrímeros. Entre ellos destaca el realizado por Roberts y col. en 1996, en el que empleaban dendrímeros PAMAM de generación 3, 5 y 7, realizando ensayos *in vitro* e *in vivo*. Este mismo trabajo mostraba la biodistribución de las

distintas generaciones, lo cual debe ser tenido en cuenta para las posteriores aplicaciones.³⁴

A pesar de que muchos estudios avalan la formación de nanoconjugados de dendrímeros PAMAM en condiciones fisiológicas,³⁵ su naturaleza hidrofílica podría impedir la transfección al no ser capaces de interactuar adecuadamente con la membrana celular. Por ello, una de las modificaciones típicas en dendrímeros PAMAM es la unión de moléculas apolares, observándose aumentos en la capacidad de transfección, además de una reducción de la toxicidad al disminuirse la exposición de los grupos amonio periféricos.^{32; 36} Juliano y col. Demostraron que al conjugar una molécula apolar a la periferia dendrítica de un dendrímero PAMAM, la transfección se incrementaba con respecto al dendrímero original (Figura 3.6).³⁷

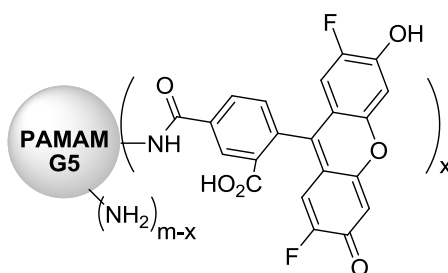
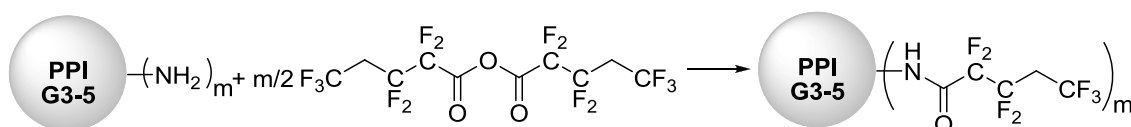


Figura 3.6 Dendrímtero PAMAM con un fluoróforo muy lipofílico unido.

Como en el caso de los dendrímeros PAMAM, los dendrímeros PPI presentan bajas tasas de transfección en ausencia de dominios lipofílicos, si bien, la introducción de fragmentos hidrofóbicos aumenta la capacidad de transfección de estos derivados. Un ejemplo reciente muestra cómo la fluorinación de la superficie dendrítica permite disminuir la toxicidad de dendrímeros PPI, aumentando también la capacidad de transfección de los mismos (Esquema 3.1).³⁸



Esquema 3.1 Estrategia de fluorinación de dendrímeros PPI.

Puesto que la flexibilidad estructural es un factor importante, también se han realizado modificaciones en este sentido bien sea cambiando el núcleo,³⁹ con el fin de alterar los huecos en el interior dendrítico y, por tanto, la movilidad de las ramas, bien mediante tratamientos térmicos como el descrito en el apartado 1.6.1 de la presente memoria.⁴⁰

Es interesante resaltar que si bien cuando se emplean dendrímeros PAMAM o polilisina habitualmente se encuentra que las generaciones altas son más eficientes, al utilizar dendrímeros PPI o carbosilano se encuentran buenas tasas de transfección con generaciones bajas.⁴¹

Una de las enfermedades candidatas a ser tratadas por medio de terapia génica es el sida. En este sentido se han utilizado, entre otros, los dendrímeros que contienen átomos de fósforo, que presentan toxicidades ligeramente inferiores a la lipofectina, un agente de transfección comercial, habiendo demostrado, también, ser buenos candidatos como agentes de transporte.⁴² A modo de ejemplo, un estudio muestra cómo un dendrímero que contiene átomos de fósforo en su estructura de cuarta generación era capaz de transfectar con una eficacia del 78% siNEF, un ARN de interferencia que silencia NEF, un gen que codifica una proteína patógena expresada por el VIH.⁴³

Otro estudio muestra cómo la sustitución de la esfera dendrítica en dendrímeros PPI con oligosacáridos modifica la fortaleza de la unión entre el material genético anti-VIH y el dendrímero, presentando un perfil de liberación más rápido en presencia de heparina que el de los dendrímeros PPI no modificados.⁴⁴

La terapia génica también se ha utilizado en numerosas ocasiones contra el cáncer. Un ejemplo lo presentan los dendrímeros de tipo polilisina, que han resultado ser buenos agentes de transfección. En este caso, se puede modificar la superficie dendrítica con otros aminoácidos, como arginina, consiguiendo un incremento de la capacidad de transfección de hasta 12 veces en células de ovario, riñón y tipo HeLa.⁴⁵

Los dendrímeros de tipo PAMAM también han resultado ser eficaces para reducir el crecimiento tumoral cuando se utilizan como agentes de transporte de material genético que codifica la ciclooxigenasa 2, que es una enzima que se encuentra desregulada en procesos neoplásicos.⁴⁶

Dendrímeros de tipo carbosilano

En nuestro grupo de investigación se han utilizado dendrímeros de esqueleto carbosilano con aminas cuaternizadas en la superficie como agentes de transporte no virales, ya que la naturaleza hidrofóbica del esqueleto carbosilano podría favorecer la biopermeabilidad y la interacción de los dendrímeros con la membrana celular, permitiendo el transporte del material genético hacia el citoplasma.¹¹

Nuestro grupo de investigación publicó los primeros ejemplos de dendrímeros carbosilano catiónicos capaces de funcionar como agentes de transfección de material genético. Estos compuestos presentaban enlaces Si-O en su estructura con uno o dos grupos amonio por rama. Los compuestos de segunda generación mostraron buenos perfiles de biocompatibilidad, además de formar nanoconjugados que eran inicialmente estables. La presencia de enlaces Si-O fácilmente hidrolizables en estas estructuras dendríticas generaba la ruptura del nanoconjugado que podría facilitar su liberación adecuadamente.

Sin embargo, en el caso del compuesto con un solo grupo amonio por rama, su rápida degradación en medio acuoso lo descartó frente al de dos grupos amonio por rama. Así, numerosos estudios han demostrado que el derivado de segunda generación, con dos grupos amonio por rama y con enlaces Si-O, denominado 2G-NN16 (Figura 3.7) tiene propiedades muy atractivas para su uso en terapia génica. Este compuesto no supone un estímulo antigénico,^{2g} es capaz de formar nanoconjugados con una gran variedad de material nucleico,⁴⁷ protege al material genético frente a la albúmina de suero bovino o humano⁴⁸ o ribonucleasas,¹¹ además de transfectarlo al interior celular en numerosas líneas celulares.^{11; 49} También se han realizado estudios sobre cómo afecta a las células,

comprobando que los principales cambios observados se refieren a la proliferación y a los procesos de regulación.⁵⁰ Finalmente, dicho compuesto no presenta una respuesta inflamatoria lo cual evita la aparición de otros procesos infecciosos.⁵¹

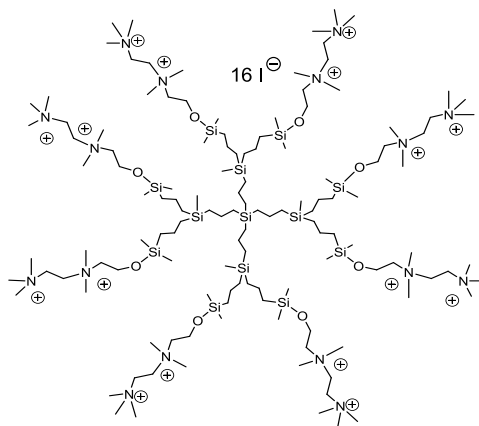


Figura 3.7 Estructura del dendrímero 2G-NN16.

A pesar de los buenos resultados, la presencia de enlaces Si-O conlleva una manipulación cuidadosa que complica su utilización. Con esto en mente, se prepararon posteriormente dendrímeros carbosilano en los que se han sustituido los enlaces hidrolizables Si-O por enlaces estables en disolución acuosa Si-C. Estos compuestos también muestran buenas propiedades como agentes de transporte no viral.⁵² Por ejemplo, dendrímeros funcionalizados por cicloadición tipo Huisgen eran capaces de incrementar la transfección *in vivo* de plásmidos en comparación al ADN desnudo y un dendrímero PAMAM de cuarta generación.⁵³

3.1.3.3 Agentes de transporte de fármacos

Los dendrímeros se pueden utilizar también para el transporte de fármacos. Para tal fin, se ha utilizado frecuentemente el encapsulamiento de los mismos, motivado por la estructura arborescente de este tipo de compuestos que deja numerosos huecos en su interior. En este caso, el tamaño de la macromolécula es un factor relevante, ya que las generaciones pequeñas tienden a tener estructuras abiertas y amorfas, mientras que las generaciones mayores pueden adoptar una conformación esférica capaz de incorporar moléculas de fármaco. A modo de ejemplo, los dendrímeros tipo PAMAM se han utilizado

para encapsular fármacos hidrofóbicos poco solubles en agua, como el anticancerígeno metotrexato⁵⁴ o el antibiótico sulfametoxazol. Este último consiguió aumentar su solubilidad en un factor de 10 en presencia de un dendrímero PAMAM de tercera generación y también su actividad con respecto a la del fármaco libre (Figura 3.8).⁵⁵ Otro estudio reciente muestra que dendrímeros PPI se pueden utilizar para el transporte de melfalán, un fármaco anticancerígeno, mostrando mejores propiedades el dendrímero de cuarta generación frente al dendrímero de tercera generación, probablemente debido al mayor número de huecos presentes entre las ramas del dendrímero. Además, la capacidad de retener el fármaco no aumentaba significativamente para la quinta generación, tal vez por impedimento de la superficie dendrítica.⁵⁶

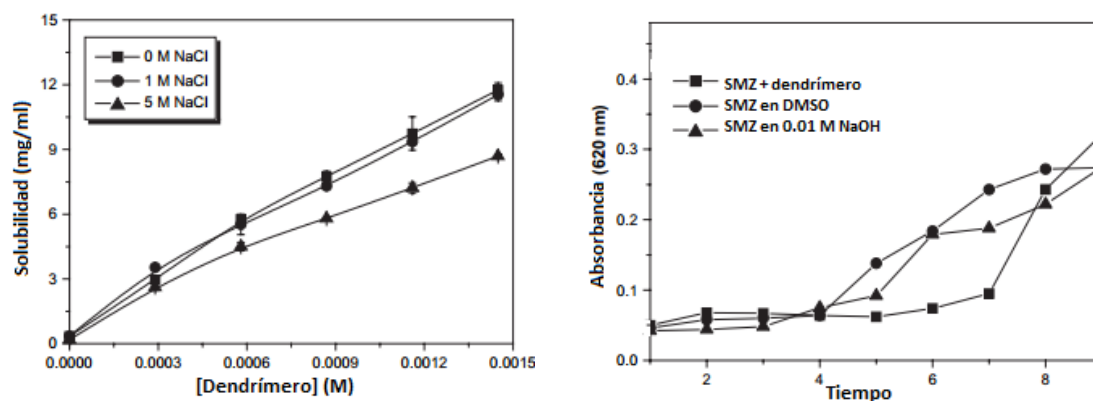


Figura 3.8 Solubilidad de sulfametoxazol en presencia de un dendrímero PAMAM de tercera generación (izq.) y modificación de la actividad antibacteriana del fármaco en presencia de dicho dendrímero (dcha.).

Otro tipo de interacción no covalente empleado para el transporte de moléculas son las interacciones electrostáticas, que requieren que la molécula dendrítica esté ionizada. Un ejemplo de unión por utilización de interacciones electrostáticas fue llevado a cabo por D'Emanuele y col.⁵⁷ En este estudio se refleja que un dendrímero tipo PAMAM de cuarta generación es capaz de interaccionar con hasta 40 moléculas de ibuprofeno, incrementándose la solubilidad de éste comparándolo con disoluciones en agua y micelas de dodecil sulfato sódico (SDS).

Por último, se puede realizar el transporte de moléculas de interés mediante unión covalente al dendrímero, de mayor fortaleza que las interacciones anteriores. En el diseño de este tipo de moléculas se debe tener en cuenta la fortaleza del enlace, puesto que si se trata de un fármaco, lo ideal es que una vez transportado el enlace sea lo suficientemente lábil como para romperse y permitir la acción terapéutica. Además, la unión de moléculas a esqueletos dendríticos a través de enlaces covalentes hidrolizables permite un mayor control de la liberación de la misma que cuando se hace uso de interacciones electrostáticas. La unión covalente de un fármaco a un dendrímero puede generar nuevos efectos, debido a la combinación de las propiedades de ambos compuestos. Así, la unión covalente de metotrexato a dendrímeros de tipo polilisina permite, debido al efecto de retención y permeabilidad aumentadas (EPR) para nanopartículas en tumores, una acumulación entre 5 y 10 veces mayor en tejidos cancerígenos que en tejidos normales (Figura 3.9).⁵⁸

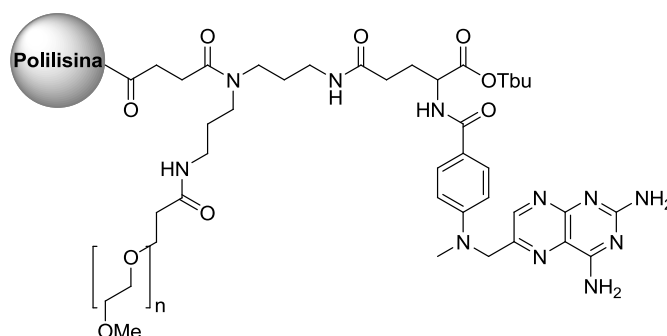


Figura 3.9 Dendrímtero de tipo polilisina con metotrexano unido covalentemente.

Hay que destacar que la estructura multivalente de los dendrímeros permite el transporte de distintas moléculas a la vez con el fin de aprovechar el gran número de funciones de la periferia, que proporcionaría distintas propiedades a la misma estructura dendrítica. Esta característica de los dendrímeros ha permitido la inclusión en un dendrímero PAMAM de quinta generación de fluoresceína con el fin de aprovechar sus propiedades fluoróforas, metotrexato como agente anticancerígeno y ácido fólico como agente director, ya que en células tumorales los receptores de folato están sobreexpresados.⁵⁹

3.1.3.4 Agentes de transporte de péptidos

Los péptidos son un tipo de moléculas formadas por la unión de distintos aminoácidos a través de enlaces tipo amido (enlace peptídico). Mientras que algunos péptidos pueden tener propiedades terapéuticas en sí mismos,⁶⁰ otros pueden ser interesantes debido a la posibilidad de utilizarlos en nanovacunas en la denominada terapia inmunogénica.⁶¹ Esta terapia se basa en la capacidad del propio organismo de responder inmunológicamente frente a una enfermedad. Para facilitar que se dé este proceso, se introducen antígenos, como pueden ser péptidos presentes en células infectadas, permitiendo que las células inmunes puedan reconocer a dichas células. Con objeto de inducir este efecto, se han utilizado péptidos antigénicos en la fabricación de vacunas. En general, un buen péptido antigénico deriva de una secuencia situada en la superficie de la proteína nativa, tiene una estructura flexible, es una secuencia única (para generar especificidad en el tratamiento) y fácil de sintetizar.

Sin embargo, la mayor dificultad en la presentación de antígenos a las células del sistema inmune deriva del hecho de que se ven repelidos electrostáticamente por la membrana celular, con carga aniónica superficial. Por ello es necesario el uso de vectores que favorezcan la transfección de estos derivados, además de protegerles de las interacciones con proteínas. Entre estos vectores, se han utilizado por ejemplo dendrímeros híbridos PPI-carbosilano mostrando que estos derivados son capaces de formar dendriplejos con péptidos anti-VIH (Figura 3.10).^{61a}

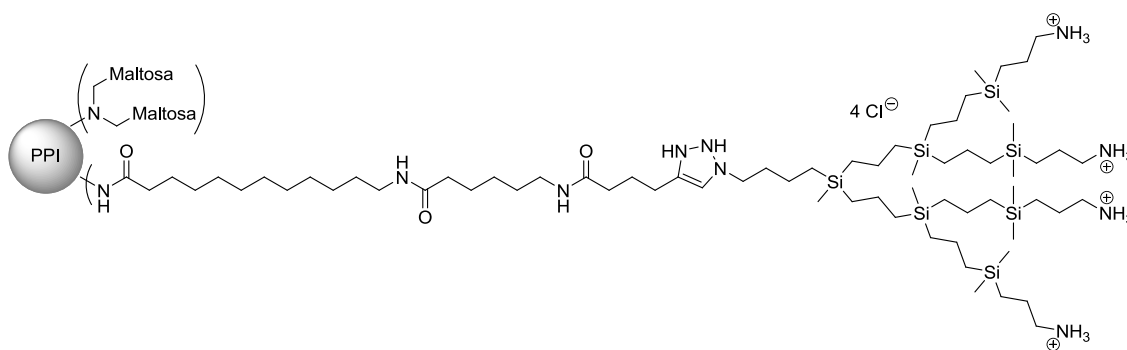


Figura 3.10 Glicodendrímtero PPI-carbosilano que ha mostrado ser eficaz en la complejación de péptidos anti-VIH.

3.1.4 Objetivos del Capítulo 3

Teniendo en cuenta las potenciales aplicaciones de los sistemas dendríticos catiónicos sintetizados en el Capítulo 2, los objetivos del Capítulo 3 son:

- i. Evaluación de las propiedades de las macromoléculas dendríticas catiónicas sintetizadas como agentes antimicrobianos y estudio de la relación estructura-actividad.
- ii. Estudio de la biocompatibilidad de las estructuras dendríticas catiónicas y su evaluación como agentes de transporte de material genético frente a VIH y cáncer.
- iii. Evaluación de la utilidad de los dendrímeros catiónicos sintetizados como componentes de nanovacunas.
- iv. Estudio de la utilidad como agentes transfectantes de materiales dendronizados con dendrones carbosilano catiónicos.
- v. Análisis de la biodistribución *in vivo* de un dendrímero carbosilano catiónico marcado con fluoresceína.

3.2 Dendrímeros catiónicos como antibacterianos y antiparasitarios

En los últimos años se ha incrementado notablemente la aparición de cepas multiresistentes. Ello se debe al uso abusivo de medicamentos, que provoca que los microorganismos se adapten evitando que los antibióticos alcancen el receptor o desarrollando otros mecanismos de defensa.⁶² Por ello ha surgido un interés en encontrar nuevos compuestos con mecanismos de acción inespecíficos, evitando de esta forma la aparición de resistencias.

Entre los nuevos candidatos con capacidad microbicida se han propuesto macromoléculas policationicas como los dendrímeros. A continuación se muestran los resultados obtenidos en la evaluación de la capacidad antibacteriana de los compuestos catiónicos sintetizados en esta tesis. En primer lugar se realizó un barrido de su actividad antibacteriana y hemolítica. A partir de estos ensayos, se eligieron aquellos compuestos con un mejor balance entre actividad y toxicidad, con objeto de comprobar si generan resistencias en bacterias, así como su actividad frente a bacterias resistentes a otros agentes antibacterianos.

Finalmente, se mostrarán los resultados obtenidos en el estudio de la actividad de algunos dendrímeros frente a otros agentes infecciosos, estudios que se realizaron en colaboración con otros grupos de investigación.

3.2.1 Actividad antibacteriana

Los estudios sobre la capacidad antibacteriana de los dendrímeros carbosilano catiónicos se han realizado por la autora de esta memoria en el contexto de la presente Tesis Doctoral en el Departamento de Biomedicina y Biotecnología de la Universidad de Alcalá con la colaboración de los Dres. José Manuel Hernández Ros, Juan Soliveri de Carranza y José Luis Copa Patiño.

Las pruebas de determinación de la actividad antibacteriana de los dendrímeros carbosilano se realizaron utilizando las bacterias *Escherichia coli* (CECT 515) y *Staphylococcus aureus* (CECT 240), como bacterias

representativas de bacterias que son gram negativa y gram positiva, respectivamente. Dichas bacterias fueron elegidas por el hecho de que poseen diferencias estructurales en su pared celular, puesto que las bacterias gram negativas poseen una doble membrana celular que las hace más resistentes a la acción de agentes antibacterianos, a diferencia de las gram positivas que poseen una única membrana celular.

Para comprobar la actividad antibacteriana se utilizó el método de microdilución en placa, midiendo la concentración mínima inhibitoria (CMI), que es la concentración necesaria para inhibir el crecimiento bacteriano (efecto bacteriostático), y la concentración mínima bactericida (CMB), que es la concentración necesaria para producir la muerte bacteriana (efecto bactericida). Para un determinado agente antibacteriano, valores bajos de CMI y CMB denotan una mayor potencia biocida, debiendo ser la CMI siempre inferior o igual a la CMB.

Los valores obtenidos se han comparado con los obtenidos para el antibiótico penicilina V potásico (PenVK), que es un antibiótico específico para bacterias de tipo gram positivo, y con tetraciclina, un antibiótico de amplio espectro con efecto bacteriostático. Los datos antibacterianos de las macromoléculas dendríticas catiónicas se presentan con sus datos en mg/l (ppm) y por sus valores en concentración de grupos amonio, $[NR_3^+]$, con el fin de poder comparar la eficacia de los grupos activos presentes en los mismos.

En general se puede decir que la mayoría de las estructuras dendríticas aquí presentadas poseen una actividad de amplio espectro al ser activos tanto frente a bacterias gram negativas como gram positivas con un comportamiento de tipo bactericida ya que los valores de CMI y CMB en ambos tipos de bacterias son muy parecidos.

3.2.1.1 Actividad antibacteriana de dendrímeros carbosilano catiónicos

En este estudio se incluyeron tanto los dendrímeros sintetizados por hidrosililación $G_nY(\text{Si-NMe}_3^+)_m$ ($Y = \text{Si}$, **7-9**; $Y = \text{O}_3$; **10-12**) como aquellos obtenidos por adición tiol-eno $G_nY(\text{S-NR}_3^+)_m$ ($Y = \text{Si}$, $R = \text{H}$, **23-25**; $Y = \text{O}_3$, $R = \text{H}$, **26-28**; $Y = \text{Si}$, $R = \text{Me}$, **43-45**; $Y = \text{O}_3$, $R = \text{Me}$, **46-49**).

Todas las familias de compuestos aquí presentadas, excepto los dendrímeros $G_n\text{Si}(\text{S-NR}_3^+)_m$ ($R = \text{H}$, **23-25**; $R = \text{Me}$, **43-45**), muestran una disminución de la actividad antibacteriana al aumentar la generación, resultando, por tanto, los grupos catiónicos $-\text{NR}_3^+$ presentes en la periferia cada vez menos activos (Tabla 3.1 y Tabla 3.2). Esto puede deberse al hecho de que a medida que aumenta la generación, también aumenta el tamaño, lo cual dificulta las interacciones con la pared bacteriana.

		<i>S. aureus</i>				<i>E. coli</i>			
		CMI		CMB		CMI		CMB	
		ppm	μM [NR ₃ ⁺]	ppm	μM [NR ₃ ⁺]	ppm	μM [NR ₃ ⁺]	ppm	μM [NR ₃ ⁺]
$G_n\text{Si}(\text{Si-NMe}_3^+)_m$	7	1	3	4	12	4	12	4	12
	8	4	11	8	21	16	43	32	85
	9	8	20	8	20	64	162	64	162
$G_n\text{O}_3(\text{Si-NMe}_3^+)_m$	10	2	6	2	6	16	45	32	90
	11	4	10	4	10	64	158	64	158
	12	16	39	16	39	64	156	64	156
PenVK		ppm	μM	ppm	μM	ppm	μM	ppm	μM
		0.016	0.048	0.031	0.093	256	766	256	766
Tetraciclina		0.125	0.25	16	33	1	2	128	266

Tabla 3.1 Actividad antibacteriana de los compuestos obtenidos por hidrosililación $G_nY(\text{Si-NMe}_3^+)_m$ (**7-12**), penicilina V potásica (PenVK) y tetraciclina.

En cuanto al núcleo dendrítico, no parece ejercer un efecto diferenciador importante en el caso de los derivados obtenidos por hidrosililación (Tabla 3.1), aunque este análisis, llevado a cabo sobre los dendrímeros obtenidos por adición tiol-eno, $G_nY(S-NMe_3^+)_m$ (Tabla 3.2), muestra que los compuestos con núcleo polifenólico presentan mucho mayor actividad.

		<i>S. aureus</i>				<i>E. coli</i>			
		CMI		CMB		CMI		CMB	
		ppm	μM [NR ₃ ⁺]	ppm	μM [NR ₃ ⁺]	ppm	μM [NR ₃ ⁺]	ppm	μM [NR ₃ ⁺]
$G_nSi(S-NH_3^+)_m$	23	128	792	256	1583	128	792	256	1583
	24	2	11	4	21	4	21	4	21
	25	512	2482	512	2482	512	2482	512	2482
$G_nO_3(S-NH_3^+)_m$	26	2	9	2	9	2	9	2	9
	27	4	18	4	18	8	37	8	37
	28	32	144	32	144	128	576	128	576
$G_nSi(S-NMe_3^+)_m$	43	128	455	512	1821	256	910	512	1821
	44	16	50	128	400	16	50	64	200
	45	32	94	32	94	32	94	32	94
$G_nO_3(S-NMe_3^+)_m$	46	2	6	2	6	2	6	4	12
	47	2	6	2	6	8	23	8	23
	48	8	22	8	22	16	45	16	45
	49	8	22	8	22	16	45	16	45
PenVK		ppm	μM	ppm	μM	ppm	μM	ppm	μM
		0.016	0.048	0.031	0.093	256	766	256	766
Tetraciclina		0.125	0.25	16	33	1	2	128	266

Tabla 3.2 Actividad antibacteriana de los compuestos obtenidos por hidrotiolación $G_nSi(S-NH_3^+)_m$ (**24**), $G_nO_3(S-NH_3^+)_m$ (**26-28**), $G_nO_3(S-NMe_3^+)_m$ (**43-49**), penicilina V potásica (PenVK) y tetraciclina.

Respecto a la presencia del átomo de azufre próximo al grupo amonio, se observa que presenta un efecto positivo en los dendrímeros con núcleo polifenólico, $G_nO_3Y_m$, y un efecto negativo en los dendrímeros con núcleo de silicio, G_nSiY_m (Tabla 3.2).

En cuanto al tipo de sustituyentes sobre el grupo amonio, $-NH_3^+$ (**23-26** y **26-28**) o $-NMe_3^+$ (**46-49**), se observan valores de actividad similares independientemente del tipo de sustituyentes sobre el nitrógeno.

Teniendo en cuenta todo lo anterior, parece que un factor clave del comportamiento de estos derivados es el balance entre las partes hidrofóbicas e hidrofílicas de su estructura. La parte hidrofóbica de estos derivados está formada por el esqueleto carbosilano, mientras que la parte hidrofílica está constituida por los grupos amonio para los derivados obtenidos por hidrosililación, y por el fragmento terminal $-SCH_2CH_2NR_3^+$, para los derivados obtenidos por hidrotiolación. Para interpretar los resultados encontrados, hay que tener en cuenta la naturaleza de la membrana plasmática, que está formada por una bicapa de fosfolípidos con dominios tanto hidrofóbicos como hidrofílicos. Las moléculas con un balance adecuado entre estos dos factores interaccionarían con mayor facilidad con la membrana y, por lo tanto, tendrían mayor actividad.

A partir de la hipótesis anterior, se pueden explicar los efectos encontrados. A mayor generación se obtiene una menor capacidad antibacteriana, probablemente debido a una mayor congestión estérica de la periferia que no permite una interacción adecuada del esqueleto dendrítico, de carácter hidrofóbico, con la membrana. Este análisis explicaría que los mejores valores de actividad sean presentados por los derivados $G_0Si(Si-NMe_3^+)_4$ (**7**), $G_1O_3(S-NH_3^+)_6$ (**26**) y $G_1O_3(S-NMe_3^+)_6$ (**46**), en los cuales la saturación de la periferia es menor.

Esta hipótesis explicaría también las diferencias obtenidas para cada uno de los núcleos en función de la presencia o ausencia de átomos de azufre cercanos a la periferia. Los dendrímeros con núcleo de silicio presentarían una

mayor congestión en el núcleo, debido a que cuatro ramas emanan de un único átomo, lo cual se traduce en una menor exposición del esqueleto carbosilano, especialmente en el dendrímero de generación 0, tal y como se ha observado en el modelaje molecular de otros derivados similares.⁶³ La modificación por hidrosililación alargaría las ramas y facilitaría la interacción de la membrana bacteriana con el esqueleto carbosilano. Por el contrario, en los derivados obtenidos por hidrotiolación, $G_n\text{Si}(\text{S}-\text{NR}_3^+)_m$ ($\text{R} = \text{H}$, **23-25**; $\text{R} = \text{Me}$, **43-45**), el esqueleto dendrítico, de carácter hidrofóbico, estaría demasiado inaccesible y, por tanto, se reduce su actividad antibacteriana, haciendo que en este caso resulten más activos los derivados obtenidos por hidrosililación, $G_n\text{Si}(\text{Si}-\text{NMe}_3^+)_m$ (**7-9**).

Sin embargo, en los derivados con núcleo polifenólico, el mayor tamaño y rigidez del núcleo daría lugar a una mayor exposición del esqueleto dendrítico y, en este caso, la presencia de grupos tioéter en los derivados $G_n\text{O}_3(\text{S}-\text{NR}_3^+)_m$ ($\text{R} = \text{H}$, **26-28**; $\text{R} = \text{Me}$, **46-49**), favorecería la actividad antibacteriana con respecto a los análogos obtenidos por hidrosililación.

Finalmente, el efecto del balance entre hidrofobia e hidrofilia ha sido empleado para explicar también los resultados obtenidos para otros esqueletos dendríticos. Así, tal y como se dijo en la introducción del presente capítulo, la incorporación de cadenas alquílicas, apolares, en dendrímeros PPI, de naturaleza hidrofílica, produce un aumento de la capacidad antibacteriana hasta que la cadena alcanza una determinada longitud, por encima de la cual el esqueleto hidrofílico se encuentra excesivamente oculto y la actividad antibacteriana se reduce drásticamente.^{9c}

3.2.1.2 Efecto del pH y de la temperatura en la actividad antibacteriana

Ya que muchos antibióticos, como algunos derivados β -lactámicos, son únicamente estables en un determinado rango de pH, es interesante comprobar

cómo afectaban el pH y la temperatura a la estabilidad de los compuestos presentados en esta tesis y, por tanto, a su actividad antibacteriana.

Desde este punto de vista, los dendrímeros con grupos amonio primario periféricos, $G_n Y(S-NH_3^+)_m$ presentan una desventaja frente a los compuestos con grupos $-NMe_3^+$, debido a la posibilidad de que se produzca la desprotonación de los grupos activos $-NH_3^+$ en presencia de bases, lo que desembocaría en la precipitación del dendrímero carbosilano como consecuencia de su carácter altamente hidrofóbico. La estabilidad del dendrímero con grupos $-NH_3^+$ frente a bases se comprobó mediante valoración potenciométrica del derivado $G_1O_3(S-NH_3^+)_6$ (**26**). En este experimento se observa un único pico de desprotonación para los distintos grupos $-NH_3^+$, con un valor de $pK_a = 9.36$, muy próximo al predicho teóricamente con el calculador de datos proporcionado por Marvin⁶⁴ (Figura 3.11-a). Este único pico se debe tanto a la proximidad de los valores de pK_a como a la precipitación del compuesto tras la desprotonación de los primeros grupos amonio. Por tanto, la actividad de estos derivados tiene *a priori* una fuerte dependencia en función del pH, ya que no presentarán ninguna actividad a altos valores de pH.

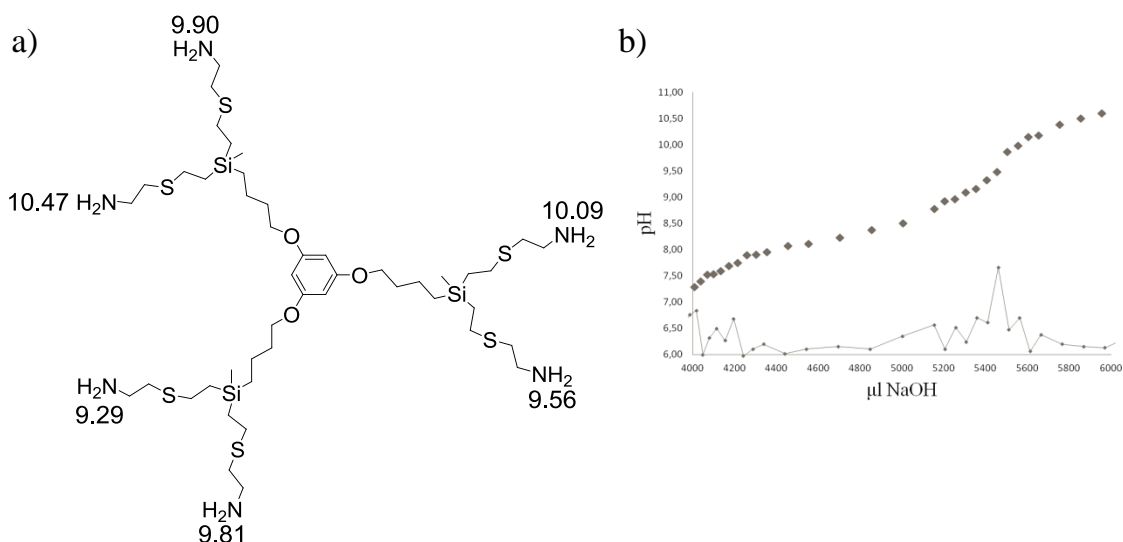


Figura 3.11 a) Valores de pK_a predichos para los distintos grupos amonio y b) valoración potenciométrica de $G_1O_3(S-NH_3^+)_6$ (**26**), la línea discontinua representa los puntos obtenidos mientras que la línea continua es la derivada.

En cuanto a los compuestos con grupos amonio cuaternarios periféricos – NMe_3^+ , para el estudio del efecto del pH y la temperatura en la actividad antibacteriana, se eligieron los dendrímeros de primera generación $\text{G}_1\text{O}_3(\text{Si-NMe}_3^+)_6$ (**10**) y $\text{G}_1\text{O}_3(\text{S-NMe}_3^+)_6$ (**46**). Estos compuestos presentan, además de una buena actividad antibacteriana, estructuras similares, siendo la única diferencia entre los mismos la presencia de grupos tioéter cercanos a los grupos amonio $-\text{NMe}_3^+$ en el derivado **46** pudiéndose valorar de esta manera si existe alguna diferencia debida a la presencia de los átomos de azufre.

Este estudio muestra que mientras que el dendrímero funcionalizado por hidrosililación $\text{G}_1\text{O}_3(\text{Si-NMe}_3^+)_6$ (**10**) presenta una actividad antibacteriana muy estable, independiente de pH o temperatura, el dendrímero obtenido por hidrotiolación $\text{G}_1\text{O}_3(\text{S-NMe}_3^+)_6$ (**46**) sufre una pérdida notable de actividad cuando es sometido a pH muy básico y temperaturas altas (Figura 3.12). Sin embargo, es importante resaltar que ambos dendrímeros son estables en condiciones fisiológicas (pH = 7.4 y 37 °C).

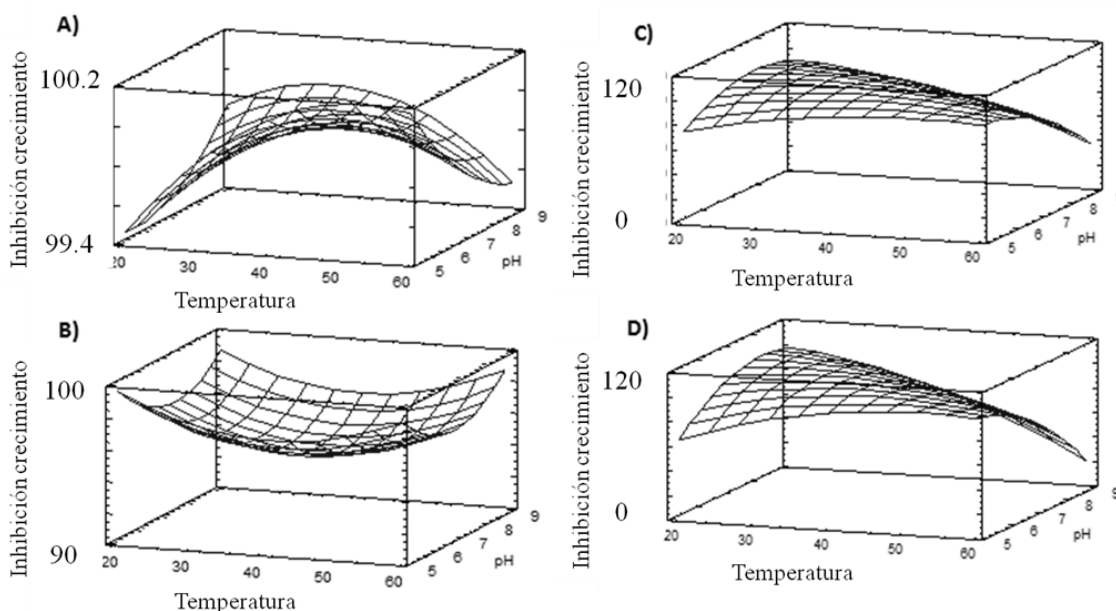
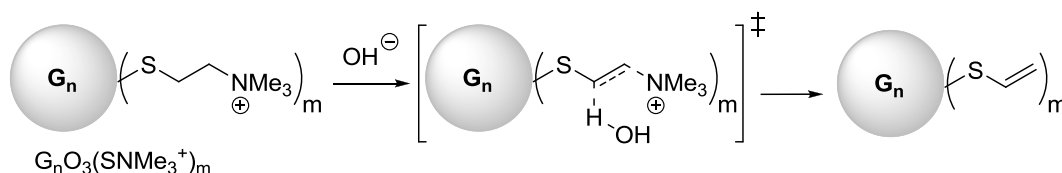


Figura 3.12 Ensayo de estabilidad para los dendrímeros **10** en *E. coli* (A) y *S. aureus* (B), y **46** en *E. coli* (C) y *S. aureus* (D) a 27 h.

La pérdida de actividad en el dendrímero **46** puede deberse a procesos de eliminación tipo Hofmann (Esquema 3.2), que reducirían el número de grupos

amonio y, por tanto, la actividad del dendrímero. Como se observa en el Esquema 3.2, este proceso consiste en una eliminación 1,2 catalizada por base, formándose una amina y un alqueno. La presencia de un átomo de azufre en posición γ aumentaría la acidez del hidrógeno en posición β , que favorecería su pérdida por ataque del grupo hidroxilo. Con el fin de comprobar si la eliminación de Hofmann era la causa de la falta de estabilidad en estas condiciones se incubó el producto **46** a pH = 9 y 60 °C durante 27 y 48 h, no observándose ninguna pérdida notable de grupos amonio periféricos por RMN. No obstante, cuando se emplean condiciones más extremas (pH = 12 y temperaturas superiores a 100 °C) se observa la formación del producto de descomposición con grupos vinilo periféricos, $-\text{SCHCH}_2$, corroborando de esta manera que la eliminación de Hofmann puede ser la causa de la pérdida de actividad de estos derivados.



Esquema 3.2 Eliminación tipo Hofmann producida a altos pH y altas temperaturas para los dendrímeros $G_nO_3(S-NMe_3^+)_m$.

3.2.1.3 Actividad antibacteriana de dendrones carbosilano catiónicos

El análisis de la actividad antibacteriana de los dendrones permite comparar, por un lado, el efecto de la topología en los compuestos dendríticos carbosilano y, por otro, la influencia de los diversos puntos focales introducidos. (Tabla 3.3).

Debido al amplio número de dendrones catiónicos preparados, en un primer paso se evaluó el efecto de la generación para una familia de dendrones. Para ello se eligieron los derivados que poseían hidroquinona en el punto focal. Así, se pudo comprobar que los dendrones $\text{HOC}_6\text{H}_4\text{OG}_n(\text{S-NMe}_3^+)_m$ (**120-122**) presentan una actividad antibacteriana dependiente de la generación, observándose en los dendrones de segunda generación la mejor actividad

antibacteriana (Tabla 3.3). Esto probablemente se deba, como en el caso de los dendrímeros, a un mejor balance entre la parte hidrofóbica, excesivamente expuesta en la primera generación que, además, posee tan sólo dos grupos amonio, y la parte hidrofílica, capaz de ocultar la parte hidrofóbica en las generaciones superiores.

En segundo lugar, se evaluó el efecto del punto focal. En este caso, no se observan grandes diferencias de actividad antibacteriana, probablemente debido al hecho de que se encuentra alejado de los grupos activos, $-NMe_3^+$, observándose una actividad ligeramente superior para el dendrón $HOC_6H_4OG_2(S-NMe_3^+)_4$ (**121**).

Y =		<i>S. aureus</i>				<i>E. coli</i>			
		CMI		CMB		CMI		CMB	
		ppm	μM [NR ₃ ⁺]	ppm	μM [NR ₃ ⁺]	ppm	μM [NR ₃ ⁺]	ppm	μM [NR ₃ ⁺]
N ₃	115	8	23	8	23	8	23	8	23
HOC ₆ H ₄ O	120	32	85	64	169	32	85	64	169
	121	2	5	4	11	4	11	4	11
	122	16	44	16	44	64	176	64	176
HOC ₂ H ₄ O	124	4	11	4	11	4	11	8	22
NH ₃ ⁺	127	8	21	8	21	8	21	8	21
PenVK		ppm	μM	ppm	μM	ppm	μM	ppm	μM
		0.016	0.048	0.031	0.093	256	766	256	766
Tetraciclina		0.125	0.25	16	33	1	2	128	266

Tabla 3.3 Actividad antibacteriana de los dendrones $YG_n(S-NMe_3^+)_m$, penicilina V potásica (PenVK) y tetraciclina.

Finalmente, respecto al efecto de la topología, al comparar los dendrones de segunda generación con cuatro grupos amonio, con el dendrímero que presenta el mismo número de grupos funcionales y que ha sido funcionalizado

también por hidrotiolación, $G_0\text{Si}(\text{S-NMe}_3^+)_4$ (**43**), los dendrones poseen mucha mayor capacidad antibacteriana, comparable a la obtenida para los dendrímeros más activos. Ello probablemente se deba a la mayor exposición del esqueleto hidrofóbico debido a la topología de estas moléculas.

3.2.1.4 Actividad antibacteriana de $\text{PenCO}_2\text{G}_2(\text{Si-NMe}_3^+)_4$ (156**)**

En cuanto al dendrón sintetizado por hidrosililación con una función de tipo penicilina en el punto focal, $\text{PenCO}_2\text{G}_2(\text{Si-NMe}_3^+)_4$ (**156**), se midió su actividad antibacteriana y se comparó con la obtenida para el dendrón análogo sin penicilina en el punto focal $\text{ClG}_2(\text{Si-NMe}_3^+)_4$ (**154**), así como para la mezcla física del dendrón **154** con la penicilina. Se muestran tan sólo los datos frente a *S. aureus*, debido a que la penicilina no presenta prácticamente actividad frente a *E. coli*.

Al igual que lo observado con los dendrímeros esféricos de núcleo polifenólico, la actividad de estos dos dendrones (Tabla 3.4) es inferior a la de los análogos con grupos tioéter en su estructura ($\text{YG}_2(\text{S-NMe}_3^+)_4$, Tabla 3.3). De nuevo, probablemente se deba a la mayor carga hidrofóbica en estos derivados, según las tendencias anteriormente observadas.

Además, no se observa ningún aumento de actividad antibacteriana en el dendrón **156** con respecto a **154**, a pesar de la presencia del fragmento de penicilina en el punto focal (Tabla 3.4). En cuanto a la mezcla física, se observa que si bien la CMI posee un valor parecido al de la penicilina, no viéndose alterada por la presencia de dendrón, la CMB se incrementa hasta una concentración de 4 ppm, probablemente debido al hecho de que dendrímero y penicilina pueden interactuar, ralentizando la acción de la penicilina. La interacción entre dendrímeros carbosilano catiónicos y penicilina V había sido observada anteriormente en nuestro grupo de investigación.⁶⁵

Teniendo en cuenta lo anterior, la falta de actividad del grupo penicilina en el dendrón **156**, puede deberse a varias razones: i) que la interacción entre el

dendrímero y la penicilina eviten la acción de esta última al no poder alcanzar su lugar de acción, las proteínas de unión a penicilina, que ejercen un papel fundamental en la biosíntesis de la pared bacteriana, ii) que no se produzca la liberación de la penicilina, bien porque las condiciones del medio no sean las adecuadas, bien porque dicho grupo no se encuentre suficientemente expuesto por la formación de agregados moleculares o iii) una descomposición de la penicilina.

	<i>S. aureus</i>					
	CMI			CMB		
	ppm	μM [NR ₃ ⁺]	μM PenVK	ppm	μM [NR ₃ ⁺]	μM PenVK
154	8	20	-	8	20	-
156	16	33	8	16	33	8
154 + PenVK	0.062	0.14	0.036	4	9	2
PenVK	0.016	-	0.048	0.031	-	0.093

Tabla 3.4 Actividad antibacteriana de los dendrones $YG_n(\text{Si-NMe}_3^+)_m$ (donde $Y = \text{Cl}$, **154** o PenCO_2 , **156**) y penicilina *V* potásica (PenVK).

La posible formación de agregados moleculares se ha comprobado mediante experimentos de RMN DOSY 2D, que permiten obtener los coeficientes de difusión, inversamente proporcional al radio hidrodinámico, de los compuestos catiónicos **154** y **156** en D₂O y del derivado neutro **152** en CDCl₃. Los datos de estos experimentos se muestran en la Tabla 3.5. Los derivados iónicos **154** y **156** presentan radios hidrodinámicos claramente mayores que el derivado neutro, **152** debido a la formación de agregados moleculares. Además, este hecho también se confirma por el aumento del radio hidrodinámico para los derivados iónicos a medida que aumenta la concentración, comportamiento que no presenta el derivado neutro.

La causa de la formación de estos agregados es probablemente la alta diferencia de polaridad entre las distintas partes de la molécula, por lo que la posibilidad de que estos dendrones den lugar a agregados estaría de acuerdo con la pérdida de la actividad del fragmento penicilina, menos accesible.

	152 ^a	152 ^b	154 ^a	154 ^b	156 ^a	156 ^b
D ($10^{-11} \text{ m}^2 \text{ s}^{-1}$)	4.9659	4.9660	5.4450	4.3652	4.9204	4.0179
r_H (10^{-9} m)	0.81	0.80	4.33	5.40	4.73	5.87

Tabla 3.5 Coeficientes de difusión (D) y radio hidrodinámico (r_H) de los dendrones **152** (δ , CDCl_3), **154** (δ , D_2O), and **156** (δ , D_2O) a 23°C y una concentración de a) 2.0 mg/0.5 mL; b) 11.0 mg/0.5 mL.

Con la intención de conocer la estabilidad del enlace éster presente en el dendrón **156**, se realizó un estudio utilizando HPLC. En esta experiencia se compararon disoluciones a pH fisiológico de penicilina y **156**, éstas últimas tratadas con esterazas provenientes de hígado de cerdo (PLE). Desafortunadamente en las disoluciones provenientes de **156** no fue posible observar la presencia de penicilina libre tras el tratamiento con esterazas, quizá debido a una cinética lenta de liberación, acompañada por una pequeña descomposición de la penicilina en presencia de la enzima. A pesar de ello, se decidió proceder a evaluar la actividad antibacteriana del dendrón **156** en presencia de esterazas.

La actividad bactericida del dendrón en presencia de esterazas aumenta con respecto a la obtenida para el dendrón **156** en ausencia de enzimas, manteniéndose prácticamente constante a lo largo del tiempo (Tabla 3.6). Además, se obtiene un valor de CMB similar al observado para la mezcla física entre dendrón y penicilina.

	0 h	24 h	48 h	72 h	168 h	336 h
CMI	4	2	2	2	2	4
CMB	4	4	4	2	2	4

Tabla 3.6 Actividad antibacteriana de $\text{PenCO}_2\text{G}_2(\text{Si-NMe}_3^+)_4$ (**156**, ppm) frente a *S. aureus* tras distintos tiempos de preincubación en presencia de esterazas.

Según los datos obtenidos, los dendrones carbosilano catiónicos podrían ser agentes de transporte óptimos para agentes antibacterianos, aunque se requieren modelos más robustos que la penicilina V para corroborar los datos aquí expuestos.

3.2.1.5 Actividad hemolítica

A la hora de pensar en utilizar compuestos con actividad antibacteriana en contacto con mamíferos, es necesario que presenten un comportamiento diferenciado respecto a células eucariotas. Esta selectividad sobre células de mamífero puede estudiarse comparando la actividad antibacteriana con la actividad hemolítica, que es la capacidad para producir la ruptura de eritrocitos. Así, un compuesto que presente un buen balance entre la capacidad antibacteriana y la toxicidad presentará bajos valores de CMI y CMB y altos valores de concentración hemolítica.

A continuación se presentan los datos de actividad hemolítica obtenidos para las macromoléculas dendríticas catiónicas con mayor actividad antibacteriana, confrontados con los de la CMB obtenida frente a *E. coli* (la bacteria contra la que son menos activos los dendrímeros, Tabla 3.7, Figura 3.13). La actividad hemolítica se presenta como H_{20} , que es la concentración de dendrímero o dendrón que produce la hemólisis del 20 % de los eritrocitos. Una representación análoga realizada para *S. aureus* revela resultados similares.

La actividad hemolítica de los derivados estudiados se ve afectada, al igual que la actividad antibacteriana, por distintos factores. En primer lugar la generación dendrítica, ya que resultan ser más tóxicos al aumentar la generación, tal y como se puede comprobar al comparar los compuestos $G_nO_3(S-NH_3^+)_m$ (26-27) o $G_nO_3(S-NMe_3^+)_m$ (46-47), para los cuales además se observa un perfil de hemoaglutinación para los compuestos de tercera generación. Este hecho ha sido observado para otros dendrímeros catiónicos y puede estar relacionado con la mayor concentración local de grupos catiónicos en la periferia dendrítica, capaces de destruir la membrana de los eritrocitos.⁶⁶ En cuanto al núcleo dendrítico, parece que los derivados con núcleo de silicio muestran mejores compatibilidades. Además, aquellos derivados que presentan grupos tioéter cercanos a la periferia dendrítica, también presentan menor actividad hemolítica.

	H ₂₀		CMB <i>E. coli</i>	
	ppm	μM [NR ₃ ⁺]	ppm	μM [NR ₃ ⁺]
G ₀ Si(Si-NMe ₃ ⁺) ₄ (7)	24	71	4	12
G ₁ O ₃ (Si-NMe ₃ ⁺) ₆ (10)	2	6	32	90
G ₁ O ₃ (S-NH ₃ ⁺) ₆ (26)	3	13	2	9
G ₂ O ₃ (S-NH ₃ ⁺) ₁₂ (27)	0.4	1.8	8	37
G ₁ Si(S-NMe ₃ ⁺) ₈ (44)	1074*	3353*	64	200
G ₁ O ₃ (S-NMe ₃ ⁺) ₆ (46)	487	1415	4	12
G ₂ O ₃ (S-NMe ₃ ⁺) ₁₂ (47)	2	6	8	23
N ₃ G ₂ (S-NMe ₃ ⁺) ₄ (115)	4	10	8	23
HOC ₆ H ₄ OG ₂ (S-NMe ₃ ⁺) ₄ (121)	184	499	4	11
HOC ₂ H ₄ OG ₂ (S-NMe ₃ ⁺) ₄ (124)	18	50	8	22
NH ₃ ⁺ G ₂ (S-NMe ₃ ⁺) ₄ (127)	84	278	8	26
ClG ₂ (Si-NMe ₃ ⁺) ₄ (154)	3	7	64	160
PenCO ₂ G ₂ (Si-NMe ₃ ⁺) ₄ (154)	2	4	32	67

Tabla 3.7 Comparación de la actividad hemolítica y antibacteriana de los compuestos más activos. Los datos marcados con el símbolo * se han obtenido por extrapolación.

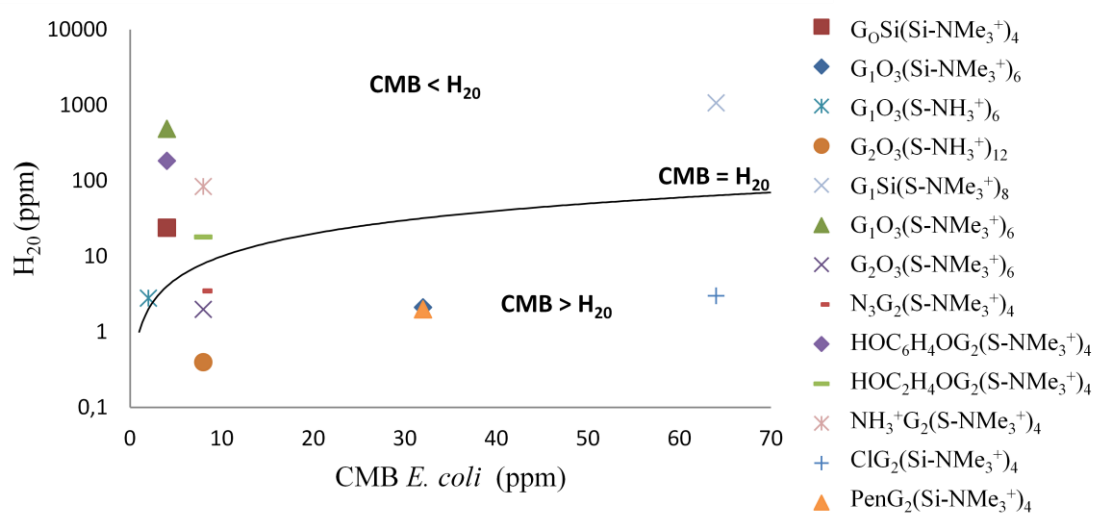


Figura 3.13 Representación de la H₂₀ frente a la CMB para los compuestos más activos. La línea sólida representa aquellos valores para los cuales CMB = H₂₀.

Comparándose los datos obtenidos para H_{20} y la CMB frente a *E. coli*, se observa que tan sólo algunos pocos compuestos son capaces de diferenciar entre bacterias y células de mamífero. Entre los mismos destacan el dendrímero $G_1O_3(S-NMe_3^+)_6$ (**46**) y el dendrón $HOC_6H_4OG_2(S-NMe_3^+)_4$ (**121**) al presentar una baja hemólisis, caracterizada por una H_{20} elevada, y una actividad antibacteriana alta, es decir, un valor de CMB bajo. Además, el pequeño tamaño de estas macromoléculas puede favorecer la reproducibilidad sintética y la caracterización, así como la completa eliminación del organismo una vez que hayan cumplido su función.⁶⁷

3.2.1.6 Ensayo de generación de resistencias

Uno de los principales problemas que conciernen a las infecciones de tipo bacteriano es, como se dijo en la introducción, la posibilidad de que las bacterias generen resistencias frente a los compuestos antibacterianos utilizados. Si bien hay antecedentes bibliográficos que indican que las bacterias no generan resistencias frente a dendrímeros tipo PAMAM,⁶⁸ es conveniente cerciorarnos de que esto es extrapolable a otros esqueletos dendríticos, como los dendrímeros de tipo carbosilano aquí utilizados.

Teniendo en cuenta los datos obtenidos de actividad antibacteriana en las bacterias utilizadas en este trabajo, así como los datos de hemólisis, se seleccionaron los compuestos $G_1O_3(S-NMe_3^+)_6$ (**46**) y $HOC_6H_4OG_2(S-NMe_3^+)_4$ (**121**) para este estudio. Con el fin de inducir resistencias en *S. aureus* y *E. coli*, se sometieron dichas bacterias a 15 ciclos de supervivencia en presencia de los compuestos dendríticos y se comparó la CMI obtenida para el ciclo 15 (CMI_{15}) con la obtenida para el ciclo 1 (CMI_1). Además, estos datos se confrontaron con la capacidad de inducir resistencias de antibióticos de uso común activos frente a bacterias de tipo gram positivo (eritromicina y penicilina) y gram negativo (gentamicina y tetraciclina). Si un compuesto induce resistencias en una determinada bacteria, la CMI aumentará y, por tanto, el compuesto habrá perdido actividad.

Tanto *E. coli* como *S. aureus* generan resistencias frente a los antibióticos utilizados como control, lo cual se traduce en un gran incremento en su CMI (Figura 3.14). Sin embargo, las macromoléculas dendríticas aquí utilizadas, **46** y **121**, no generan, o apenas generan, resistencias frente a estas bacterias. Sólo el dendrímero **46** genera una resistencia mínima en *S. aureus*, sin embargo, los niveles de resistencia son claramente menores que los generados por los antibióticos utilizados como control en este estudio.

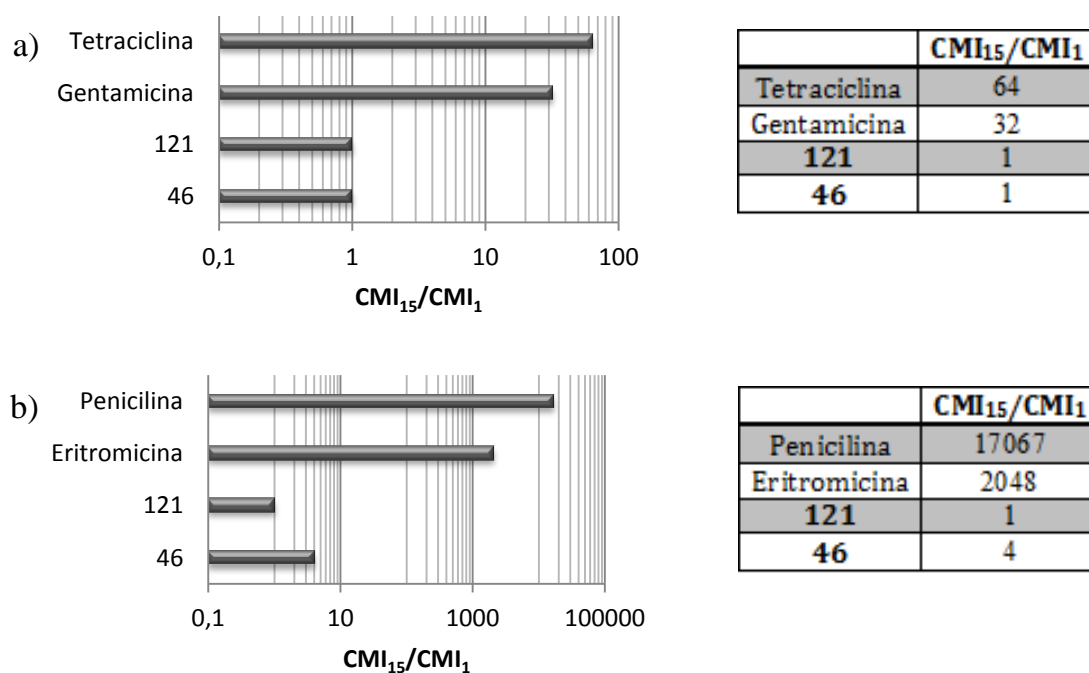


Figura 3.14 CMI₁₅/CMI₁ para a) tetraciclina, gentamicina, **121** y **46** frente a *E. coli* y b) penicilina, eritromicina, **121** y **46** frente a *S. aureus*.

3.2.1.7 Actividad frente a bacterias resistentes

Finalmente, teniendo en cuenta que numerosas cepas de bacterias presentes en hospitales muestran resistencias frente a algún antibiótico, se decidió comprobar si el dendrímero G₁O₃(S-NMe₃⁺)₆ (**46**) y el dendrón HOC₆H₄OG₂(S-NMe₃⁺)₄ (**121**) eran igualmente activos frente a cepas de *S. aureus* y *E. coli* que presentaban resistencias a antibióticos.

<i>S. aureus</i>	G₁O₃(S-NMe₃⁺)₆, 46				HOC₆H₄OG₂(S-NMe₃⁺)₄, 121			
	CMI		CMB		CMI		CMB	
	ppm	μM [NR ₃ ⁺]	ppm	μM [NR ₃ ⁺]	ppm	μM [NR ₃ ⁺]	ppm	μM [NR ₃ ⁺]
No resistente	2	6	2	6	2	5	4	11
Resistente a Penicilina V	2	6	4	12	2	5	2	5

Tabla 3.8 Actividad antibacteriana de los compuestos **46** y **121** frente a *S. aureus* y *S. aureus* resistente a penicilina.

Los resultados frente a *S. aureus* muestran que ambos derivados son prácticamente igual de activos frente a la cepa resistente que frente a la cepa no resistente, observándose sólo pequeñas diferencias en la CMB (Tabla 3.8). Resultados similares se obtienen cuando la cepa resistente pertenece a *E. coli*, resultando los dendrímeros igual o ligeramente más activos frente a estas cepas (Tabla 3.9).

<i>E. coli</i>	G₁O₃(S-NMe₃⁺)₆, 46				HOC₆H₄OG₂(S-NMe₃⁺)₄, 121			
	CMI		CMB		CMI		CMB	
	ppm	μM [NR ₃ ⁺]	ppm	μM [NR ₃ ⁺]	ppm	μM [NR ₃ ⁺]	ppm	μM [NR ₃ ⁺]
No resistente	2	6	4	12	4	11	4	11
Resistente a Tetraciclina	2	6	2	6	4	11	4	11
Resistente a Gentamicina	4	12	4	12	2	5	2	5

Tabla 3.9 Actividad antibacteriana de los compuestos **46** y **121** frente a *E. coli* y *E. coli* resistente a tetraciclina y gentamicina.

Por último y, puesto que *S. aureus* había desarrollado pequeñas resistencias frente al dendrímero **46**, decidimos comprobar si la actividad de los derivados dendríticos era idéntica frente a cepas que se habían sometido a 15 ciclos de supervivencia en presencia de **46** ó **121** (Tabla 3.10).

Así, el dendrón **121** presentaba una actividad idéntica frente a las bacterias no resistentes que frente a la cepa de *S. aureus* que había desarrollado una pequeña resistencia frente a **46**. De igual manera, el dendrímero **46** era igualmente activo frente a la cepa que se había enfrentado a 15 ciclos de supervivencia en contacto con el dendrón **121**, por lo que aunque una determinada bacteria genere pequeñas resistencias frente a una molécula dendrítica, ello no implica una disminución de la actividad del resto de macromoléculas dendríticas frente a la misma (Tabla 3.10).

<i>S. aureus</i>	$G_1O_3(S-NMe_3^+)_6$ 46				$HOC_6H_4OG_2(S-NMe_3^+)_4$ 121			
	CMI		CMB		CMI		CMB	
	ppm	μM [NR ₃ ⁺]	ppm	μM [NR ₃ ⁺]	ppm	μM [NR ₃ ⁺]	ppm	μM [NR ₃ ⁺]
No resistente	2	6	2	6	2	5	4	11
Ciclo 15 enfrentada a 46	8	24	16	48	2	5	4	11
Ciclo 15 enfrentada a 121	2	6	4	12	2	5	2	5

Tabla 3.10 Actividad antibacteriana de los compuestos **46** y **121** frente a *S. aureus* y *S. aureus* sometida a 15 ciclos de supervivencia frente a **46** y **121**.

En cuanto a la bacteria *E. coli* sometida a 15 ciclos de supervivencia en contacto con **46** y **121**, la actividad antibacteriana al tratarla con estos derivados, tampoco se vio alterada con respecto a la cepa no resistente (Tabla 3.11).

<i>E. coli:</i>	$G_1O_3(S-NMe_3^+)_6$ 46				$HOC_6H_4OG_2(S-NMe_3^+)_4$ 121			
	CMI		CMB		CMI		CMB	
	ppm	μM [NR ₃ ⁺]	ppm	μM [NR ₃ ⁺]	ppm	μM [NR ₃ ⁺]	ppm	μM [NR ₃ ⁺]
No resistente	2	6	4	12	4	11	4	11
Ciclo 15 enfrentada a 46	2	6	2	6	2	5	2	5
Ciclo 15 enfrentada a 121	2	6	2	6	2	5	2	5

Tabla 3.11 Actividad antibacteriana de los compuestos **46** y **121** frente a *E. coli* y *E. coli* sometida a 15 ciclos de supervivencia frente a **46** y **121**.

3.2.2 Utilización como agentes leishmanicidas

Los protozoos parásitos del género *Leishmania* son responsables de las enfermedades conocidas con el nombre genérico de leishmaniosis. Los fármacos disponibles frente a estas enfermedades tienen eficacia limitada y presentan múltiples inconvenientes como la aparición de resistencias, la larga duración de los tratamientos, la gravedad de sus efectos secundarios y su elevado coste. Con el fin de evitar estos problemas los dendrímeros podrían utilizarse como alternativa.

Los especímenes de *Leishmania* muestran dos morfologías durante su ciclo vital: la forma amastigote y la forma promastigote. Las cepas de tipo amastigote presentan forma redondeada y carente de flagelo y viven en el interior de las células de mamíferos. Las de tipo promastigote presentan forma alargada y con flagelo y viven en los insectos, vectores de la enfermedad.

En un estudio realizado en colaboración con el grupo de los Dres. Rosa Reguera y Rafael Balaña del Departamento de Ciencias Biomédicas de la Universidad de León, hemos comprobado la actividad leishmanicida de los derivados $G_nO_3(S-NMe_3^+)_m$ (**46-49**) en dos modelos.⁶⁹

El primer modelo utilizado fueron amastigotes de *Leishmania infantum* BCN 150, que sobreexpresan la proteína infrarroja fluorescente ifp 1.4, en explantes de bazo de ratón. Este modelo permite conocer la eficacia de los dendrímeros frente a la forma amastigote presente en el interior de los macrófagos del hospedador vertebrado. El segundo modelo fueron promastigotes de *L. infantum* BCN 150, cepa salvaje que permite conocer en qué medida afectan los compuestos a la forma del parásito que reside en el tubo digestivo del insecto vector.

Los valores se presentan en la Tabla 3.12 como IC_{50} , que es la concentración que produce la muerte del 50 % de los parásitos. Todos los dendrímeros analizados presentan mayor actividad frente a los parásitos presentes en células de bazo infectadas que frente a la cepa salvaje, debido a la

mayor resistencia de esta última frente a agentes químicos. Como se puede comprobar en la Tabla 3.12, los dendrímeros de primera y segunda generación (**46** y **47**) son los que presentan mayor actividad.

Con el fin de comprobar la selectividad, reflejada por el índice terapéutico (IT), de estos derivados con respecto a células mamíferas, se utilizaron dos líneas celulares inmortalizadas. En primer lugar se utilizaron células RAW264.7, que son tipo macrófago. Esta línea celular fue elegida porque los macrófagos participan en los primeros pasos del ciclo de infección fagocitando los promastigotes que se transforman en su interior en la forma amastigote. La otra línea celular inmortalizada utilizada fueron las células hepáticas HepG2, ya que el hígado es uno de los órganos directamente afectados por *leishmaniasis*. Por último se utilizó un cultivo primario de células de bazo no infectadas para comprobar si hay discriminación con respecto a las células de bazo infectadas. La toxicidad frente a las líneas celulares elegidas se expresó como IC₅₀ que en este caso es la concentración que produce la muerte del 50 % de las células.

	IC ₅₀ Amastigote		IC ₅₀ Promastigote		RAW 264.7		HepG2		Cel. Bazo	
	ppm	μM [NR ₃ ⁺]	ppm	μM [NR ₃ ⁺]	IC ₅₀ (ppm)	IT _a	IC ₅₀ (ppm)	IT _a	IC ₅₀ (ppm)	IT _a
46	2	5	10	30	18	9	123	61	58	29
47	5	14	11	30	5	1	21	4	21	4
48	16	45	494	1389	51	3	46	3	72	4
49	13	37	26	72	29	2	25	2	43	3

Tabla 3.12 Actividad leishmanicida de los derivados G_nO₃(S-NMe₃⁺)₆ (**46-49**) frente a la forma amastigote y la forma promastigote, toxicidad frente a distintas líneas celulares e índice terapéutico frente a la forma amastigote.

$$IT_a = IC_{50(\text{línea celular})} / IC_{50(\text{amastigote})}$$

La selectividad frente a la forma amastigote se comprobó utilizando el índice terapéutico, que es el cociente entre la IC₅₀ correspondiente a determinada línea celular y la IC₅₀ correspondiente a la cepa amastigote. De todos los dendrímeros analizados, de nuevo el dendrímero de primera generación G₁O₃(S-NMe₃⁺)₆ (**46**) presenta el mejor balance entre actividad y toxicidad, dejando un rango adecuado de acción para tratar la forma amastigote al ser al menos 9 veces

más tóxico frente a los cultivos infectados que frente a los cultivos celulares aquí probados. El resto de compuestos presentan menor selectividad, es decir, valores de índice terapéutico menores, no siendo en ningún caso capaces de diferenciar de manera significativa entre las líneas celulares utilizadas y las formas amastigote o promastigote del parásito.

3.2.3 Utilización como agentes amebicidas

Acanthamoeba polyphaga es un protozoo responsable de infecciones oculares como la queratitis por *Acanthamoeba*. Como en los casos anteriores, se necesita una mejora de los tratamientos para reducir la toxicidad de los fármacos conocidos o evitar resistencias.⁷⁰ A continuación se presenta la actividad y selectividad de algunos de los dendrímeros sintetizados en esta tesis frente a trofozoitos, forma activa, y quistes, forma latente y resistente que se caracteriza por estar recubierta de una membrana llamada ectocisto, de *Acanthamoeba polyphaga*.⁷¹

Este estudio se ha realizado en colaboración con la doctoranda Irene Heredero Bermejo y el Dr. Jorge Pérez Serrano del Departamento de Biomedicina y Biotecnología de la Universidad de Alcalá.

3.2.3.1 Selectividad frente a trofozoitos

Se estudió la actividad amebicida de los dendrímeros $G_n Y(Si-NMe_3^+)_m$ ($Y = Si$, **7** y **9**; $Y = O_3$, **11-12**), $G_n O_3(S-NH_3^+)_m$ (**26-28**) y $G_n Y(S-NMe_3^+)_m$ ($Y = Si$, **43-45**; $Y = O_3$, **46-48**) frente a trofozoitos y se comparó con su citotoxicidad en células HeLa, línea celular inmortalizada de cáncer de cérvix. Todos los datos fueron además comparados con clorhexidina digluconato, un antiséptico de uso comercial que se utilizó como control.

De todos los dendrímeros analizados, tan sólo cinco **7**, **26**, **44**, **46** y **47** presentan una selectividad significativa frente a trofozoitos con respecto a células de mamífero. La actividad de dichos compuestos sigue, además, las tendencias observadas en bacterias, tanto en la actividad microbicida como en la toxicidad

(apartado 3.2.1). De los dendrímeros obtenidos por hidrosililación tan sólo presenta una actividad significativa $G_0Si(Si-NMe_3^+)_4$ (**7**) y, de nuevo, los compuestos $G_nSi(S-NMe_3^+)_m$ (**43-45**) presentan una actividad extremadamente baja. Así pues, exceptuando el dendrímero **7**, la mayor actividad la presentan de nuevo los compuestos con núcleo polifénolico obtenidos por adición tiol-eno (Tabla 3.13).

		IC ₅₀ Trofozoitos		HeLa	
		ppm	μM [NR ₃ ⁺]	IC ₅₀ (ppm)	IT
$G_nY(Si-NMe_3^+)_m$	7	7.8	24	16.0	2.0
	9	62.0	157	15.9	<0
	11	48.3	118	24.0	<0
	12	45.0	110	33.9	<0
$G_nY(S-NH_3^+)_m$	26	2.4	12	6.2	2.6
	27	19.0	87	8.5	<0
	28	27.5	126	10.4	<0
$G_nY(S-NMe_3^+)_m$	43	430.1	1457	> 512	>1
	44	46.5	144	390.2	8.4
	45	21.7	66	29.2	1.3
	46	16.9	49	69.5	4.1
	47	13.3	38	26.9	2.0
	48	26.9	76	31.2	1.1
Clorhexidina*		ppm	μM	IC ₅₀ (ppm)	IT
		1.7	3	8.2	4.8

Tabla 3.13 Actividad, toxicidad y selectividad de los dendrímeros analizados y clorhexidina frente a trofozoitos y células HeLa a 24 h. $IT = IC_{50(HeLa)}/IC_{50(trofozoitos)}$.

3.2.3.2 Actividad frente a quistes

Una vez seleccionados algunos dendrímeros por su selectividad, se procedió a comprobar su eficacia frente a quistes. Para ello se midió la concentración necesaria para erradicarlos en función del tiempo comprobándose que tan sólo los dos compuestos que son más activos frente a la forma trofozoito $G_1Si(Si-NMe_3^+)_4$ (**7**) y $G_1O_3(S-NH_3^+)_6$ (**26**), son capaces de inhibir los quistes (Tabla 3.14). Sin embargo las concentraciones necesarias son muy altas, y están por encima del límite de toxicidad, por lo que estos compuestos aún resultando útiles para tratar la forma trofozoito de amebas, no presentan actividad significativa frente a la forma de quiste, aunque dada su actividad frente a la forma trofozoito podrían actuar con un carácter preventivo.

	4 h	24 h	48 h	72 h
7	512	512	256	256
26	256	128	64	64
43	>512	>512	>512	>512
44	>512	>512	>512	>512
46	>512	>512	>512	>512
Clorhexidina	20	10	10	5

Tabla 3.14 Concentración, en función del tiempo, que erradica los quistes de amebas de los dendrímeros seleccionados y clorhexidina (ppm).

3.2.4 Conclusiones del apartado

Las estructuras dendríticas de tipo carbosilano poseen una capacidad antibacteriana de amplio espectro que parece depender del balance entre la hidrofobia, proporcionada por el esqueleto dendrítico, y la hidrofilia, proporcionada por los grupos amonio y los grupos tioéter, de estos compuestos. Debido a ello los compuestos con mayor actividad frente a bacterias son los dendrímeros de generación más baja, obtenido por hidrosililación en el caso del dendrímero con núcleo de silicio, $G_0Si(Si-NMe_3^+)_4$ (**7**) y obtenido por adición tiol-eno, en el caso del núcleo polifenólico, $G_1O_3(S-NMe_3^+)_4$ (**46**). Además, también presentan actividades similares con las bacterias estudiadas, de en torno 4 ppm, los dendrones de segunda generación obtenidos por adición tiol-eno,

$\text{YG}_2(\text{S-NMe}_3^+)_4$ (**121**). Por último, la inclusión de un fragmento de penicilina en el punto focal, aumenta ligeramente su capacidad antibacteriana con respecto a la del dendrón sin penicilina, aunque ostenta valores muy alejados de los obtenidos para la penicilina libre.

Los estudios de hemólisis han mostrado que el dendrímero $\text{G}_1\text{O}_3(\text{S-NMe}_3^+)_4$ (**46**) y el dendrón $\text{HOC}_6\text{H}_4\text{OG}_2(\text{S-NMe}_3^+)_4$ (**121**) presentan el mejor balance entre actividad y toxicidad. Estos dos derivados también han mostrado ser capaces de actuar frente a las bacterias estudiadas (*E. coli* y *S. aureus*) sin inducir en las mismas resistencias de manera significativa, además de poseer una actividad similar frente a cepas que ya son resistentes a algunos antibióticos. Los resultados anteriores son prometedores pues revelan que estos compuestos podrían ser aptos para ser utilizados de forma preventiva o contra infecciones de carácter bacteriano.

Por último, estos derivados poseen actividad microbida frente a otros agentes infecciosos como *Leishmania infantum* y *Acanthamoeba polyphaga*, presentando la actividad frente a estos agentes tendencias similares a las encontradas en bacterias. También se encuentran tendencias similares a las observadas en los ensayos de hemólisis en la toxicidad frente a las líneas celulares eucarióticas estudiadas en cada caso. Teniendo en cuenta los resultados de toxicidad y actividad frente a estos agentes infecciosos, se puede decir que los compuestos analizados presentan selectividad y, por tanto, podrían resultar aptos para ser utilizados frente a las formas amastigote de *Leishmania* y trofozoito de *Acanthamoeba polyphaga*, pero no frente a la cepa salvaje, promastigote de *Leishmania*, o a la forma resistente tipo quiste de *Acanthamoeba polyphaga*.

3.3 Dendrímeros catiónicos como agentes de transfección

3.3.1 Agentes de transfección contra el VIH

Según el informe UNAIDS de 2013, unos 2 millones de personas se contagian de sida cada año y unos 35.3 millones de personas padecían sida en 2013.⁷² Si bien se conocen tratamientos para el sida, como la terapia antirretroviral,⁷³ todos ellos presentan numerosos efectos secundarios y, por ello, es preciso buscar nuevas terapias alternativas. Entre las nuevas terapias contra el VIH, ha surgido la terapia génica, que consiste en la modificación de la expresión génica. Tal y como ya se ha comentado, las estructuras dendríticas catiónicas de tipo carbosilano pueden ser utilizadas para internalizar material genético en células infectadas con el virus del sida, que contiene algunos genes susceptibles de ser bloqueados por ARN pequeño de interferencia (ARNpi o siRNA por sus siglas en inglés). En esta sección se muestra una evaluación de la toxicidad celular de los dendrímeros, un estudio de la capacidad de unión de dendrímeros con un ARNpi (siNEF) y la eficacia de algunos nanoconjugados en la inhibición del VIH. siNEF es la secuencia antisentido del ARN que codifica a Nef, una proteína del VIH que genera la depresión de células que expresan el correceptor CD4, facilitando la liberación de los viriones de células infectadas. Todos estos experimentos se llevaron a cabo en colaboración con el grupo de la Dra. M^a Ángeles Muñoz-Fernández del Hospital General Universitario Gregorio Marañón.

3.3.1.1 Ensayos de viabilidad celular

Para este estudio se han seleccionado los dendrímeros esféricos funcionalizados por hidrosililación $G_nO_3(Si-NMe_3^+)_m$ ($n = 1, 2, 3$ y $m = 6, 12, 24$; **10-12**) e hidrotiolación $G_nO_3(S-NMe_3^+)_m$ ($n = 1, 2, 3, 4$ y $m = 6, 12, 24, 48$; **46-49**), así como los dendrones marcados con fluoresceína FITCG_n(S-NMe₃⁺)_m ($n = 2, 3$ y $m = 4, 8$; **131-132**), con el fin de dilucidar diferencias debidas a la

presencia de un átomo de azufre cercano en la periferia o a la topología. La toxicidad de estos compuestos ha sido evaluada en células mononucleares de sangre periférica (CMSP), línea celular objetivo del VIH ya que pertenece al sistema inmunitario y expresa un correceptor denominado CD4 que es inhibido por el virus durante la infección, impidiendo así el reconocimiento de antígenos y permitiendo la infección por nuevos agentes patógenos.

El efecto tóxico de los dendrímeros por sí solos se ha medido a través del ensayo MTT que evalúa la actividad metabólica de las células. Se trata de un ensayo colorimétrico basado en la capacidad selectiva de las células viables para reducir el bromuro de (3-(4,5-Dimetiltiazol-2-il)-2,5-difeniltetrazolio (MTT) en cristales de formazán insolubles en agua y solubles en DMSO (Figura 3.15), que se analizan mediante colorimetría. Se considera que un compuesto es biocompatible cuando la disminución de la actividad metabólica es inferior al 20 %, es decir, hay una supervivencia celular superior al 80 %. Como control de crecimiento se toma la propia línea celular, así como una molécula inocua (dextrano) y un control de muerte celular (DMSO).

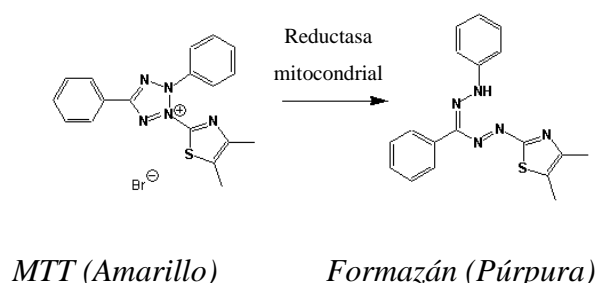


Figura 3.15 Reacción de reducción producida por las células viables en el ensayo MTT.

I. $G_nO_3(\text{Si-NMe}_3^+)_m$ (10-12)

Entre los dendrímeros obtenidos por hidrosililación el dendrímero $G_2O_3(\text{Si-NMe}_3^+)_m$ (**11**) presenta la menor toxicidad, 3 μM (Figura 3.16). Como la toxicidad de estos derivados proviene principalmente de los grupos catiónicos, capaces de desestabilizar la membrana plasmática, normalmente la toxicidad aumenta a medida que aumenta la generación. Si bien, en este caso se encuentra

un mínimo de toxicidad para la segunda generación, esto puede deberse a otros factores, que pueden influir en la exposición de los grupos periféricos.

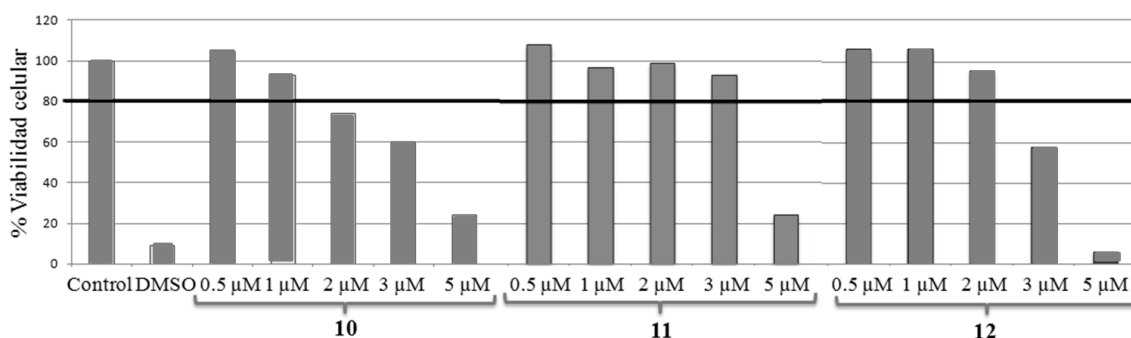


Figura 3.16 Ensayo MTT de los dendrímeros $G_nO_3(Si-NMe_3^+)_m$ (10-12) en CMSP.

II. $G_nO_3(S-NMe_3^+)_m$ (46-49)

En el caso de los dendrímeros obtenidos por adición tiol-eno, la biocompatibilidad oscila entre 1 y 20 μ M, descendiendo a medida que aumenta la generación, tal y como era de esperar (Figura 3.17). Estos derivados presentan una menor toxicidad que los obtenidos mediante hidrosililación, siendo al menos 20 veces más tóxico el dendrímero 10 de primera generación obtenido por hidrosililación (1 μ M, Figura 3.16) con respecto al dendrímero 46 obtenido por adición tiol-eno (>20 μ M, Figura 3.17). Este hecho concuerda con los datos encontrados en los ensayos de hemólisis (apartado 3.2.1.5) y de toxicidad en células HeLa (apartado 3.2.3.1).

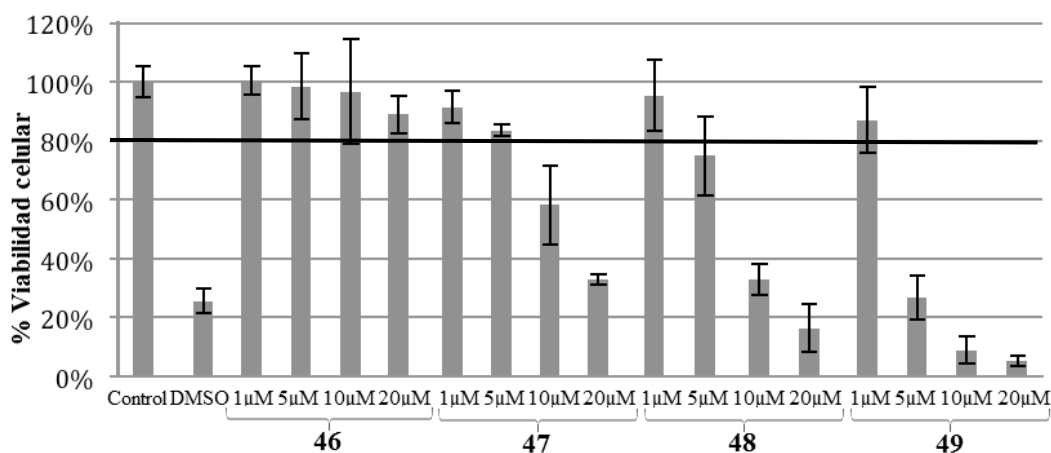


Figura 3.17 Ensayo MTT de los dendrímeros $G_nO_3(S-NMe_3^+)_m$ (46-49) en CMSP.

III. FITCNMeG_n(S-NMe₃⁺)_m (131-132)

Un análisis de los valores de toxicidad obtenidos para los dendrones FITCNMeG_n(S-NMe₃⁺)_m (131-132) y su comparación con los dendrímeros esféricos homofuncionalizados, G_nO₃(S-NMe₃⁺)_m (46-49), muestra claramente que la toxicidad aumenta con el número de cargas por lo que la influencia de la topología se puede considerar insignificante en este caso (Figura 3.18).

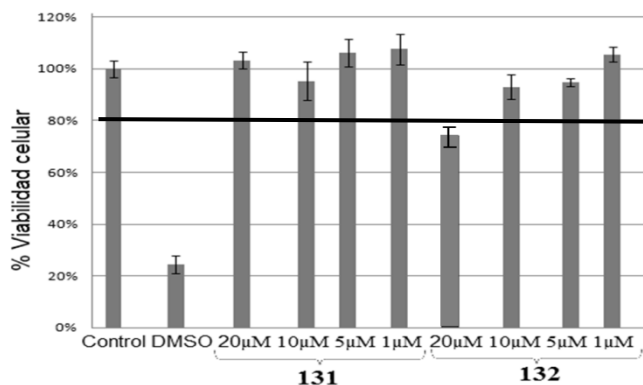


Figura 3.18 Ensayo MTT de los dendrones FITCNMeG_n(S-NMe₃⁺)_m, 131-132 en CMSP.

3.3.1.2 Estudio de formación de nanoconjugados

Una vez estudiada la toxicidad de las macromoléculas dendríticas sintetizadas, el siguiente paso fue verificar si son capaces de unir material nucleico. Para ello, se ha evaluado la capacidad de retención de ARN de interferencia (ARNpi o siRNA por sus siglas en inglés), que es un tipo de ARN capaz de suprimir la expresión de un determinado gen. Dado que nuestro propósito es combatir el virus del sida, en este caso se ha utilizado como ARN siNEF.

Dicho estudio se ha realizado mediante electroforesis en geles de agarosa. Al tener el material genético carga negativa, éste migrará hacia el polo positivo, en ausencia de dendrímero o cuando no sea capaz de formar un complejo estable con la macromolécula dendrítica. Pero cuando el dendrímero sea capaz de formar un complejo estable con el ácido nucleico (nanoconjugado), éste quedará retenido en el pocillo junto al dendrímero. Como patrón se ha utilizado el propio

siNEF, observándose para el mismo que en ausencia de dendrímero migra hacia el polo positivo.

En todos los geles mostrados a continuación se muestra el polo negativo en la zona superior y el polo positivo en la inferior. Además, constan de varias columnas correspondientes a distintas mezclas. En la primera columna se mostrará siempre el siNEF de forma aislada, que, al migrar al polo positivo, aparecerá en la parte inferior de la imagen. Las siguientes columnas corresponderán a mezclas de dendrímero con siNEF en distintas proporciones carga negativa (correspondiente al ARNpi), carga positiva (correspondiente al dendrímero). Como es de esperar, en los ensayos recogidos en esta memoria se observa que la fortaleza de la interacción aumenta con la proporción de dendrímero, siendo necesario un exceso de carga positiva para que se forme un nanoconjugado suficientemente estable para posteriores ensayos.^{48b; 74} A continuación se presentan más detalladamente los resultados para cada familia de dendrímeros utilizada.

I. $G_nO_3(Si-NMe_3^+)_m$ (10-11)

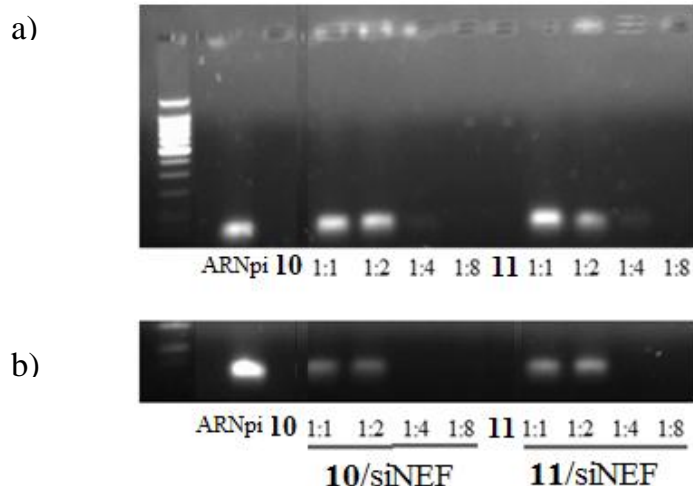


Figura 3.19 Electroforesis de los nanoconjugados siNEF/10 ó 11 para distintas ratios carga negativa:carga positiva a a) 2 h y b) 24 h. El polo positivo se encuentra en la parte inferior de la figura.

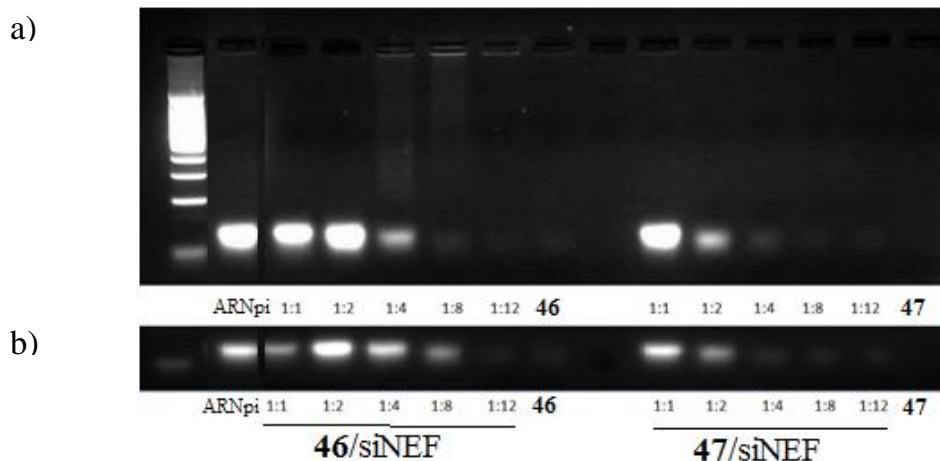
Se realizaron geles de electroforesis a 2 y 24 h de los derivados obtenidos por hidrosililación 10-11 (Figura 3.19). Ambos compuestos son capaces de

retener oligonucleótidos tanto a ratio 1:4 (carga negativa:carga positiva) como a ratio 1:8.

II. $G_nO_3(S-NMe_3^+)_m$ (46-49)

Para los dendrímeros obtenidos por adición tipo tiol-eno también se caracterizó por electroforesis la formación de nanoconjugados con siNEF a 2 y 24 h. Así se comprobó que para el dendrímero de primera generación $G_1O_3(S-NMe_3^+)_6$ (46) se forma el dendriplejo a partir de una ratio 1:8 (Figura 3.20-a), aunque se produce la liberación del material nucleico a tiempos superiores (Figura 3.20-b), precisándose mayores ratios para obtener nanoconjugados estables a lo largo del tiempo. No obstante, este comportamiento podría ser ventajoso si tenemos en cuenta que, una vez en el interior celular, el material nucleico debe ser liberado para que cumpla su función.

Para las generaciones superiores se obtienen nanoconjugados estables a menores ratios 1:4 (47 y 49) ó 1:8 (48).



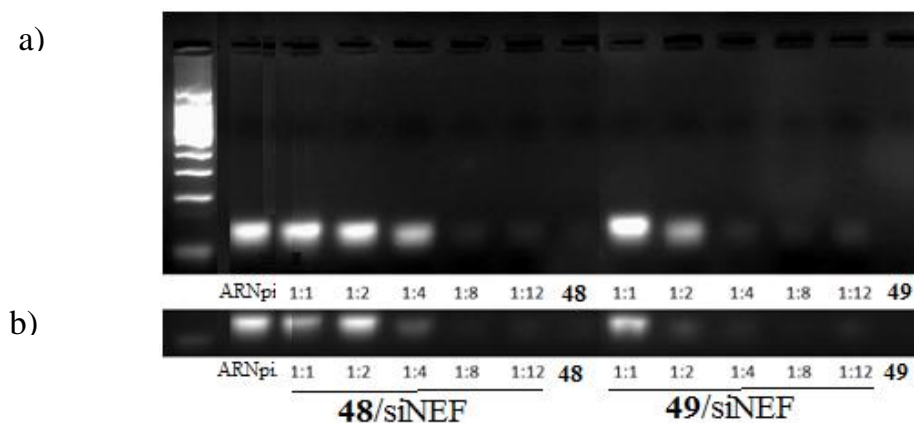


Figura 3.20 Electroforesis de los nanoconjugados siNEF/46-49 para distintas ratios carga negativa:carga positiva a a) 2 h y b) 24 h. El polo positivo se encuentra en la parte inferior de la figura.

III. FITCNMeG_n(S-NMe₃⁺)_m (131-132)

Los dendrones de segunda y tercera generación FITCNMeG_n(S-NMe₃⁺)_m (131-132) no son capaces de retener, aún en presencia de grandes excesos de carga positiva, todo el material nucleico siNEF en los tiempos estudiados (2 y 24 h), aunque sí se observa una cierta formación de nanoconjugado que se revela por una menor intensidad de la banda de ARNpi con respecto al control (Figura 3.21).

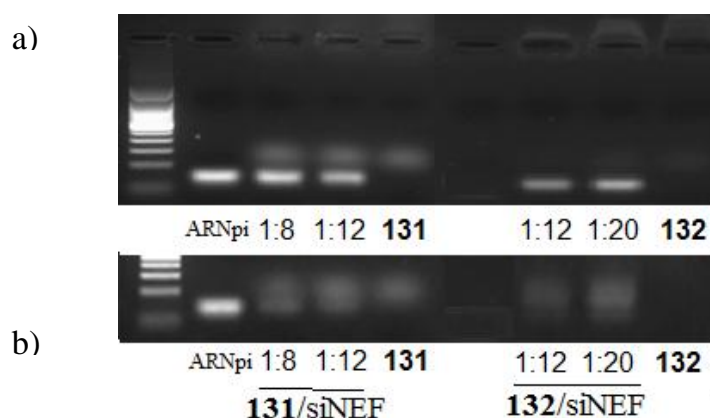


Figura 3.21 Electroforesis de los nanoconjugados siNEF/131-132 para distintas ratios carga negativa:carga positiva a a) 2 h y b) 24 h. El polo positivo se encuentra en la parte inferior de la figura.

3.3.1.3 Estabilidad de los nanoconjugados dendrímero-siNEF frente a heparina

Teniendo en cuenta que, tal y como se acaba de exponer, sólo los dendrímeros esféricos $G_nO_3(Si-NMe_3^+)_m$ (**10-12**) o $G_nO_3(S-NMe_3^+)_m$ (**46-49**) forman nanoconjugados con siNEF, así como que los dendrímeros sintetizados por hidrotiolación presentan menor toxicidad frente a CMSP, se decidió continuar los estudios sobre la posibilidad de usar estos compuestos como agentes de transporte contra el VIH tan sólo con los dendrímeros obtenidos por adición tiol-eno, **46-49**.

Los dendrímeros $G_nO_3(S-NMe_3^+)_m$ (**46-49**) forman nanoconjugados estables a distintas ratios de carga (apartado 3.3.1.2). Tal y como se ha comentado en la introducción, compuestos anteriormente sintetizados en nuestro grupo de investigación, con dos átomos de nitrógeno por rama, podían transfectar el material nucleico al interior celular pero formaban nanoconjugados muy estables de forma que el material genético no era posteriormente liberado.^{52b} Por ello, decidimos evaluar la fortaleza de la unión entre nuestros dendrímeros y el material nucleico empleado. Para ello se simula un encuentro dentro de la célula del complejo con moléculas aniónicas que competirán con el material nucleico por la unión con el dendrímero. Como modelo se eligió la heparina que es una sustancia natural de la sangre que presenta carga negativa y que puede, por tanto, generar la ruptura del nanoconjugado por competencia.

Para llevar a cabo este estudio, se han realizado geles de agarosa para los nanoconjugados siNEF/**46-47** a ratio 1:12 y para siNEF/**48-49** a ratio 1:8, en presencia de concentraciones crecientes de heparina con el fin de observar la migración del ARNpi (Figura 3.22). Tras exponer los correspondientes nanoconjugados a distintas concentraciones de heparina se observa para todos los casos una ruptura del nanoconjugado, implicando una competencia significativa que, en medio celular, permitirá al dendrímero liberar el siNEF para que ejerza su acción.

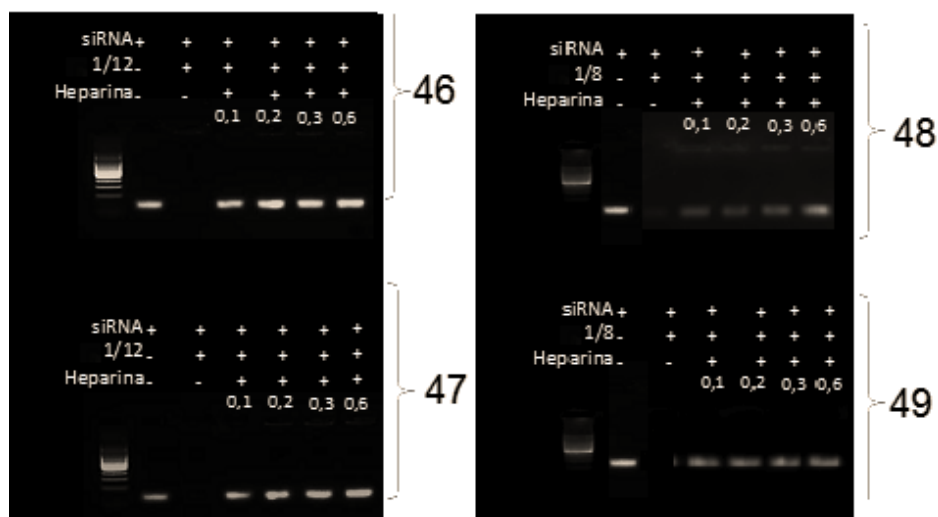


Figura 3.22 Electroforesis de los nanoconjugados siNEF/46-49 en presencia de concentraciones crecientes de heparina. El polo positivo se encuentra en la parte inferior de la figura.

3.3.1.4 Biocompatibilidad de los nanoconjugados dendrímero-siNEF

Una vez analizada la biocompatibilidad de los dendrímeros $G_nO_3(S-NMe_3^+)_m$ (46-49) y su capacidad para formar los complejos con el ARNpi, es necesario conocer la toxicidad de los nanoconjugados formados entre los dendrímeros y el ARNpi en las proporciones de carga adecuadas, según los ensayos de electroforesis, de modo que se seleccionaron las ratios 1:12 para siNEF/46-47 y 1:8 para siNEF/48-49.

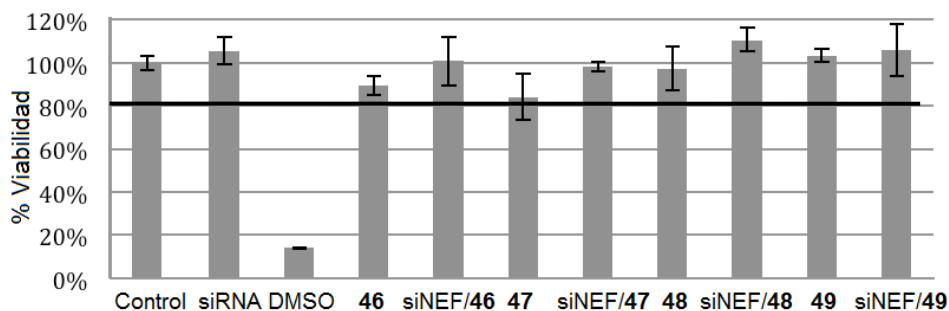


Figura 3.23 Ensayo MTT de los nanoconjugados siNEF/46-47 (1:8) y siNEF/48-49 (1:12) en CMSP.

En todos los casos se observa un ligero descenso de la toxicidad (Figura 3.23), probablemente debido a la ocultación parcial de las cargas catiónicas superficiales del dendrímero, involucradas en la interacción con el ácido nucleico.

3.3.1.5 Ensayos de inhibición del VIH por los nanoconjugados dendrímero-siNEF

Teniendo en cuenta la biocompatibilidad, así como las propiedades del nanoconjugado, se decidió comprobar si los complejos estudiados eran capaces de producir la inhibición de la infección del VIH a través del ensayo del antígeno P24 del VIH (Figura 3.24). Éste consiste en un inmunoensayo modificado en el que se sensibiliza una superficie con un anticuerpo que reconoce específicamente a la proteína P24 (proporcional a la infección por VIH). Esta unión se cuantifica colorimétricamente de modo tal que cuanto mayor es el grado de infección por VIH, más proteínas se unirán a dichos anticuerpos. Para ello se eligieron los dendrímeros $G_nO_3(S-NMe_3^+)_m$ (**48** y **49**) de tercera y cuarta generación, que forman nanoconjugados a menores ratios carga positiva:carga negativa. En este experimento se incuban los distintos dendrímeros y dendriplejos dendrímero-ARNpi con CMSP previamente infectadas con el VIH para comprobar la capacidad de inhibición producida de los nanoconjugados.

Como control de no infección se usan células no infectadas y como control de infección, células infectadas. Además se añaden de manera independiente dos ARNpi, siNEF y siRANDOM, este último con una secuencia aleatoria, para comprobar que en ausencia de transportadores son incapaces de inhibir la infección viral. Como control de inhibición se usan dos fármacos: zidoduvina (AZT), inhibidor de la retrotranscriptasa; y fuzeon (T20), inhibidor de la entrada viral en el proceso de fusión. También se comprueba la inhibición generada sólo por los dendrímeros **48** y **49** observando que generan cierta inhibición en ausencia de ARNpi, que en el caso del dendrímero $G_3O_3(S-NMe_3^+)_{24}$ (**48**) alcanza el 36 %, del orden de la generada por el fármaco T20 (31

%). Este efecto ha sido observado anteriormente para polipéptidos y dendrímeros catiónicos.^{52; 75}

Además, el nanoconjugado siNEF/**49** produce una mayor inhibición que cuando se usa el dendrímero **49** en solitario y próxima a la generada por T20 y el dendrímero **48**.

Las inhibiciones encontradas para ambos nanoconjugados son moderadas, a pesar de que estos compuestos son capaces de formar nanoconjugados con estos dendrímeros.

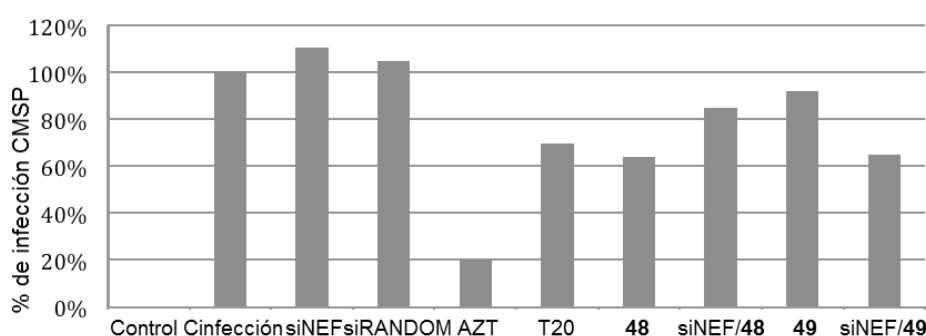


Figura 3.24 Inhibición del antígeno P24 por los nanoconjugados siNEF/48 y 49.

3.3.2 Agentes de transfección frente a cáncer

El cáncer de melanoma es la variedad más grave del cáncer de piel debido a su gran capacidad de generar metástasis. Además, en sus estados avanzados es resistente a los tratamientos convencionales, razón por la que es necesario buscar nuevas terapias que traten esta enfermedad.

Las estructuras dendríticas catiónicas resultan interesantes como agentes de transporte contra cáncer, ya que los dendrímeros son capaces de transportar al material nucleico a las zonas tumorales debido al efecto EPR.⁷⁶ Por ello, se decidió evaluar las propiedades anticancerígenas de los nanoconjugados entre dendrímeros de tipo carbosilano y un ARN sintético de doble cadena (ARNdc o dsRNA en inglés), un polímero de poli-inosina/ácido policitidílico denominado como pIC. Este ARNdc ha demostrado ser eficiente contra el cáncer de melanoma en combinación con otros agentes de transporte como polímeros de

polietilenimina, PEI, actuando mediante mecanismos de autofagia que inducen finalmente la apoptosis de las células cancerígenas.⁷⁷

Este estudio se ha realizado en colaboración con el grupo de la Dra. María Soledad Soengas del Centro Nacional de Investigaciones Oncológicas.

3.3.2.1 Estudios de la capacidad antitumoral *in vitro*

Como se ha indicado en el apartado 3.3.1, los dendrímeros, descritos en esta memoria, que han proporcionado los mejores resultados como agentes de transporte de material nucleico frente a VIH fueron los derivados $G_nO_3(S-NMe_3^+)_m$ (**46-49**). Por ello, inicialmente se seleccionó esta familia de compuestos, aunque después de los correspondientes ensayos de toxicidad, formación de nanoconjugados con el ARNdc y actividad frente a cáncer de melanoma, se seleccionó el derivado $G_4O_3(S-NMe_3^+)_{48}$ (**49**). El nanoconjugado de este compuesto presentaba una mayor actividad que la del resto de generaciones dendríticas, quizá ligada a su mayor tamaño, ya que en este caso el agente a transportar es un ARNdc de gran tamaño que requeriría un vehículo de mayor tamaño. En el presente apartado tan sólo se exponen los resultados obtenidos para dicho dendrímero con el fin de simplificar la discusión.

Tras comprobar la toxicidad, se analizó la capacidad antitumoral *in vitro* del dendrímero en ausencia y presencia de pIC, comparando la proliferación celular, en células de melanoma tipo SK-MeI.103, con la obtenida para el control, en el que no se añadió dendrímero (Figura 3.25). Ni el ARNdc ni el dendrímero inhiben la proliferación celular de forma significativa de manera independiente (con disminuciones de en torno al 5 %). Sin embargo, el nanoconjugado pIC/**49** produce una tasa de mortalidad del 75 % con respecto al control (Figura 3.25-b).

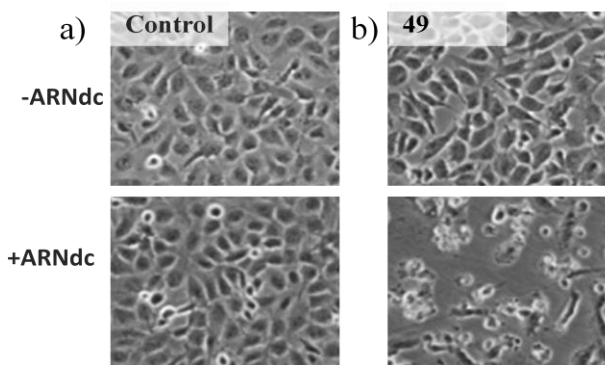


Figura 3.25 Capacidad anticancerígena de a) ARNdc, b) Nanoconjugado ARNdc/49 en células de melanoma tipo SK-MeI.103.

3.3.2.2 Estudio de la capacidad antitumoral *in vivo*

Una vez determinado que el nanoconjugado pIC/49 era activo *in vitro*, se procedió a comprobar su actividad *in vivo*. Para ello se utilizó un modelo metastásico pulmonar en ratones, al ser los pulmones uno de los órganos más afectado por metástasis en el cáncer de melanoma. Este modelo fue tratado con 25, 50 ó 100 $\mu\text{g}/\text{kg}$ de dendrímero o nanoconjugado los días 7, 11, 14 y 18 del experimento, analizándose el tumor este último día. Además se comparó el resultado con el obtenido por el nanoconjugado pIC/PEI así como con el dendrímero 49 en ausencia de ARNdc (25 μg de dosis por día).

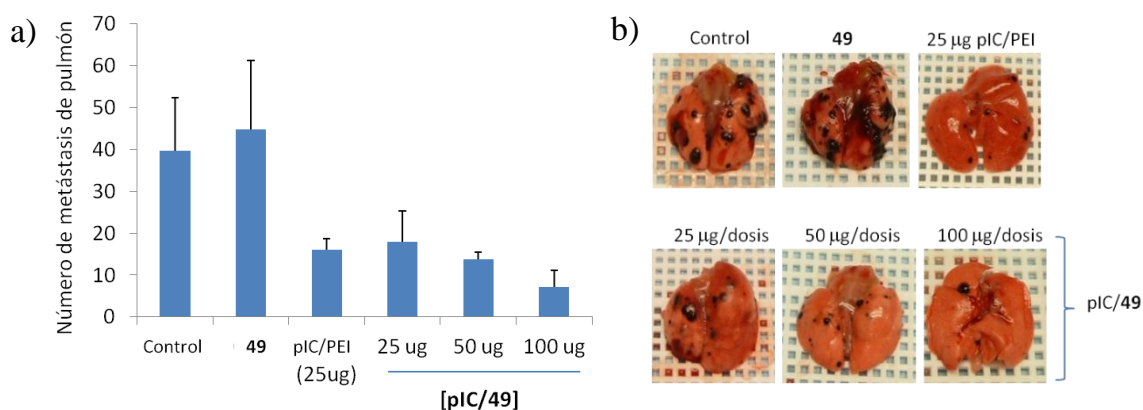


Figura 3.26 Efecto del nanoconjugado pIC/49 sobre la metástasis de melanoma en pulmones de ratón. a) Número de metástasis de pulmón el día 18 tras tratamiento b) Tumores extraídos tras tratamiento.

Mientras que el dendrímero 49 no presentaba ningún comportamiento antitumoral, tal y como ya se había observado en los estudios *in vitro* (apartado

3.3.2.1), el nanoconjugado pIC/49 presentaba una gran actividad antitumoral que hacía prácticamente desaparecer el cáncer en el pulmón tras un tratamiento con dosis de 100 μg (Figura 3.26). Además, este nuevo nanoconjugado presenta un efecto similar al de pIC/PEI, proponiéndose como una nueva alternativa para el tratamiento de melanoma, con la ventaja de una menor toxicidad, así como de una mayor monodispersidad que podría permitir obtener mayores reproducibilidades en los experimentos posteriores.

3.3.3 Conclusiones del apartado

Los ensayos de toxicidad mostraron que los derivados sintetizados por hidrotiolación poseían una mayor biocompatibilidad con respecto a los sintetizados por hidrosililación, tal y como se había observado en los ensayos de hemólisis (apartado 3.2.1.5) y de toxicidad frente a células HeLa (apartado 3.2.3.1). Además los ensayos de formación de nanoconjugados mostraron que los dendrímeros $G_nO_3(S-NMe_3^+)_m$ (46-49) forman nanoconjugados estables con siNEF, produciéndose la liberación del ARNpi en presencia de otros agentes. Sin embargo, los ensayos de inhibición del VIH con los nanoconjugados de los dendrímeros de tercera y cuarta generación, 48 y 49, muestran tan sólo una inhibición moderada de la infección del VIH.

En cuanto a los resultados de transfección del ARNdc pIC en terapia contra el cáncer de melanoma, se comprobó que la mayor capacidad antitumoral *in vitro* se obtenía para el nanoconjugado pIC/49 que además, presentaba una actividad antitumoral *in vivo* muy significativa y similar a la observada para el nanoconjugado de dicho ARNdc con polietilénimina (pIC/PEI), un agente de transporte previamente utilizado.

Los resultados anteriores resultan prometedores con el fin de utilizar estos derivados como agentes de transfección. Por ello se propuso utilizar estos compuestos también como agentes de transporte de otro tipo de moléculas (apartado 3.4), así como la utilización de materiales dendronizados como agentes de transporte de material nucleico (apartado 3.5).

3.4 Dendrímeros catiónicos como componentes de nanovacunas

Una opción alternativa para el tratamiento del sida supone aprovechar la capacidad de las células dendríticas, pertenecientes al sistema inmune, de presentar antígenos a otras células, recuperando de esta forma la función inmune en individuos infectados.⁷⁸ Entre dichos antígenos se encuentran algunos péptidos. Sin embargo, el carácter aniónico de algunos de estos péptidos evita que crucen las membranas celulares, también aniónicas, por repulsiones electrostáticas.

Las estructuras dendríticas catiónicas de tipo carbosilano pueden ser utilizadas para internalizar péptidos antigénicos en células dendríticas.^{61b} En el presente estudio se ha propuesto caracterizar la unión entre los dendrímeros carbosilano sintetizados en la presente tesis y péptidos aniónicos anti-VIH mediante tres técnicas físico-químicas: polarización de fluorescencia, dicroísmo circular y potencial zeta. La caracterización de la unión de dendrímeros catiónicos a péptidos aniónicos se llevó a cabo en el grupo de la Dra. Maria Bryszewska de la Universidad de Łodz (Łodz, Polonia) en el contexto de una estancia predoctoral en el marco de una acción COST titulada “Dendrimers in Biomedical Applications”. Una vez caracterizados los nanoconjugados y, en el marco de otro proyecto europeo titulado DENPEPTHIV se dará, próximamente, continuidad a este estudio con la medida de la toxicidad, la capacidad de transfección, así como la respuesta inmune generada por los dendriplejos.

Para estos estudios se eligieron los dendrímeros obtenidos por adición tioleno $G_nO_3(S-NMe_3^+)_m$ (**46-49**) y tres péptidos aniónicos anti-VIH que podrían formar nanoconjugados con los dendrímeros catiónicos, protegiendo a los péptidos a lo largo del organismo hasta que alcancen su objetivo. Los péptidos seleccionados fueron secuencias de las proteínas Nef, P24 y Gp160 con longitudes entre 10 y 20 aminoácidos. Nef es una proteína que impide la expresión del correceptor CD4, P24 es una proteína de la cápside del virus y

Gp160 es una proteína precursora de gp120 y gp41, proteínas de la superficie viral responsables de la unión del virus a células que expresan el correceptor CD4 y de la fusión del virus con la célula anfitriona respectivamente.

3.4.1 Polarización de fluorescencia

Las moléculas fluorescentes que en una disolución han sido excitadas con luz polarizada plana emiten de nuevo en un plano fijo, ya que la polarización se conserva, siempre y cuando la molécula permanezca quieta durante el proceso de excitación (Figura 3.27). Como en solución las moléculas se encuentran girando al azar, y al girar cambia el plano de polarización de la luz que emite, si la molécula gira lentamente, el plano de polarización de la luz emitida es prácticamente el mismo que el de la luz incidente, conservándose la polarización de la luz; pero si la molécula gira muy rápido el plano es muy distinto al original, obteniéndose luz no polarizada. Las moléculas pequeñas giran muy rápido, por lo que, tras haber sido irradiadas con luz polarizada, emiten luz no polarizada, mientras que las moléculas grandes, que giran más despacio, emiten luz altamente polarizada. La polarización de fluorescencia proporciona información sobre la movilidad y orientación de las moléculas, entendiéndose por polarización una relación entre la fluorescencia generada en el plano horizontal y el vertical (Figura 3.27). Por tanto, para una molécula fluorescente, a mayor tamaño molecular, mayor es la polarización.

Debido a las diferencias de polarización producidas por los distintos tamaños moleculares, esta técnica puede ser útil para caracterizar la formación de nanoconjugados dendrímero-péptido. Para ello se mide la polarización de mezclas de péptidos marcados (molécula pequeña que rota libremente) con concentraciones crecientes de dendrímero. Si se observase un incremento en el valor de polarización, éste estaría relacionado con la formación de nanoconjugados (de mayor tamaño que el péptido original).

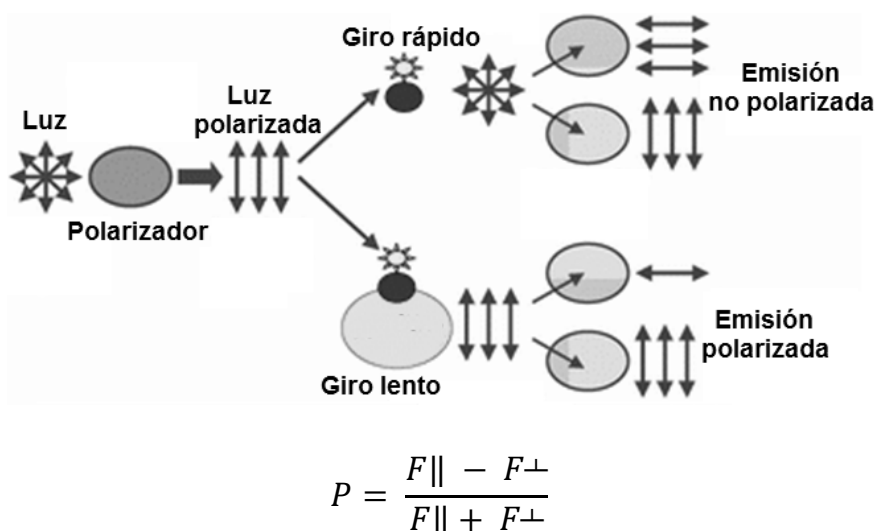


Figura 3.27 Mecanismo de la polarización de fluorescencia y ecuación de la polarización. \parallel significa paralelo a la luz polarizada y \perp perpendicular a la misma.

En nuestro caso este ensayo mostró que, tras la adición de cualquiera de los dendrímeros a las disoluciones de péptido, se observaba un incremento rápido de la polarización, lo cual implica que el dendrímero se une rápidamente al péptido marcado con fluorescencia, alcanzándose posteriormente una meseta o una gran estabilización a distintos ratios para cada dendriplejo (Figura 3.28, Tabla 3.15).

Además, se observa que a mayor generación dendrítica el tamaño de los nanoconjugados finales es mayor, pues presentan mayor incremento en la polarización, excepto para el nanoconjugado entre P24 y $G_4O_3(S-NMe_3^+)_{48}$ (**49**) con un valor de polarización inferior al de $G_3O_3(S-NMe_3^+)_{24}$ (**48**, Figura 3.28).

En cuanto a las relaciones de carga positiva:carga negativa ($Q_p:Q_n$) necesarias para la formación completa de los nanoconjugados, las menores ratios son necesarias para los dendrímeros de segunda y tercera generación $G_nO_3(S-NMe_3^+)_m$ (**47-48**), requiriéndose ratios mucho mayores para formar los nanoconjugados péptido/dendrímero para los compuestos de primera y cuarta generación $G_nO_3(S-NMe_3^+)_m$ (**46** y **49**, Tabla 3.15). Esto es explicable para el dendrímero de primera generación **46**, ya que debido a su menor tamaño, poseería una menor densidad de carga en su superficie, que dificultaría la formación de interacciones adecuadas con los péptidos. Sin embargo, en el caso

del dendrímero de cuarta generación, **49**, esta no puede ser la razón y esta menor capacidad de formar nanoconjugados puede deberse a una conformación espacial inadecuada que impida la interacción entre las cargas del dendrímero y el péptido. Un resultado similar se obtiene al comparar la proporción de péptidos presentes en el punto de equivalencia por molécula dendrítica (p:d), destacando especialmente el dendrímero de tercera generación **48**, ya que es capaz de albergar en promedio un mayor número de moléculas de péptido en su periferia.

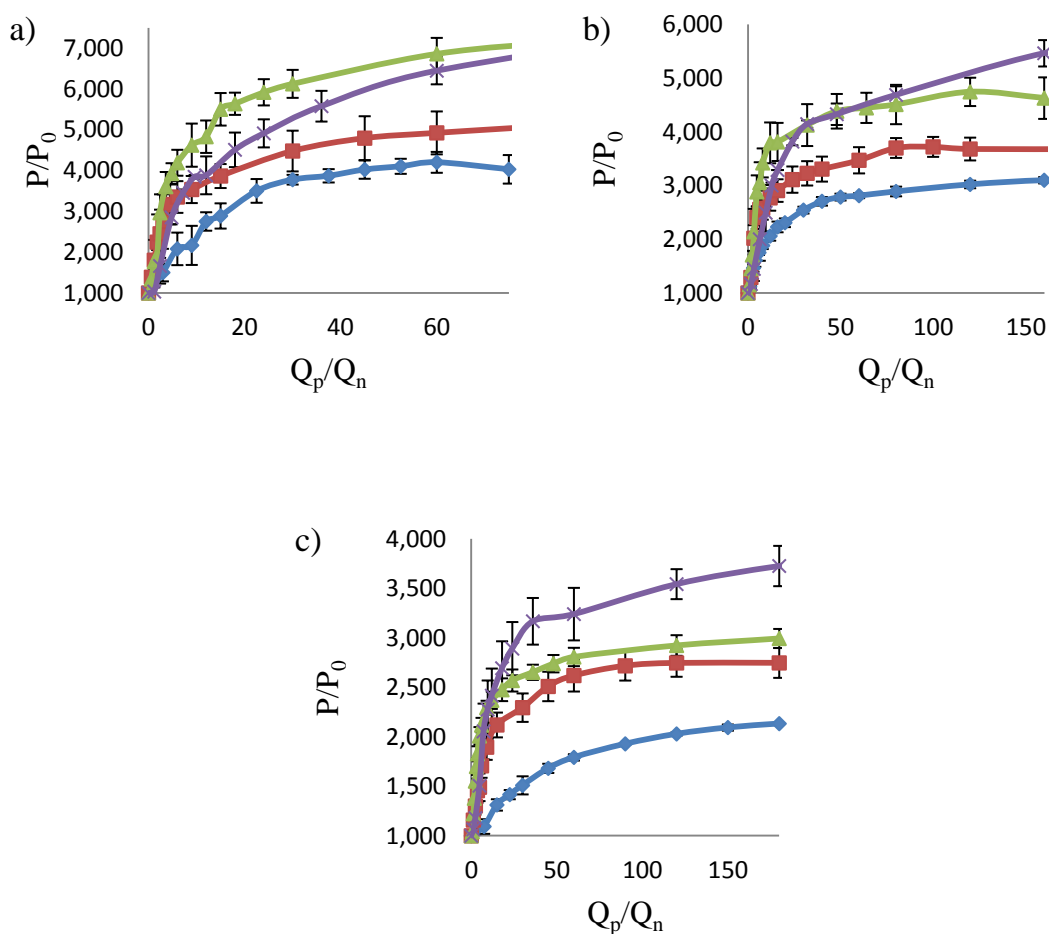


Figura 3.28 Relación entre la polarización final y la polarización inicial (P/P_0) para distintas ratios carga positiva:carga negativa (Q_p/Q_n) de los nanoconjugados de **46** (azul), **47** (rojo), **48** (verde) y **49** (morado) con a) P24, b) Nef, c) Gp160.

	46		47		48		49	
	Q _p :Q _n	p:d	Q _p :Q _n	p:d	Q _p :Q _n	p:d	Q _p :Q _n	p:d
P24	18.0	0.08	5.7	0.53	2.2	2.72	27.6	0.43
Nef	12.6	0.16	9.2	0.43	9.6	0.83	25.6	0.62
Gp160	46.5	0.03	15.6	0.19	10.8	0.56	30.0	0.40

Tabla 3.15 Ratio $Q_p:Q_n$ y unidades de péptido por molécula dendrítica ($p:d$) tras la formación completa de los nanoconjugados péptido/46-49.

3.4.2 Potencial ζ

El potencial zeta (ζ) es un parámetro que determina la densidad de carga superficial en una partícula, mediante la medida de la velocidad de la misma cuando es sometida a un campo eléctrico. El resultado será un número positivo, en el caso de que la carga superficial sea positiva, y negativo cuando ésta sea negativa. La valoración de una disolución peptídica con un dendrímero debería mostrar un cambio de potencial zeta desde valores negativos para el péptido aniónico a valores positivos al final de la gráfica debido a la carga catiónica del dendrímero.

En la valoración realizada con los dendrímeros y péptidos aquí utilizados (Figura 3.29) se observa una zona inicial con valores negativos, indicando que las cargas de los dendrímeros no pueden compensar las cargas negativas de los péptidos. A continuación, la disolución de los dendriplejos alcanza el denominado punto isoelectrico, en el que el potencial zeta tiene un valor de 0, debido a una compensación entre las cargas positivas del dendrímero y las cargas negativas de los péptidos. Este punto se alcanza a ratios muy distintas para cada nanoconjugado péptido-dendrímero. Para los dendrímeros estudiados $G_nO_3(S-NMe_3^+)_m$ (46-49) la ratio $Q_p:Q_n$ necesario para alcanzar potenciales zeta positivos, disminuye a medida que aumenta la generación, no llegando a ser mayor que 1 en ningún caso para el dendrímero de cuarta generación 49 (Tabla 3.16).

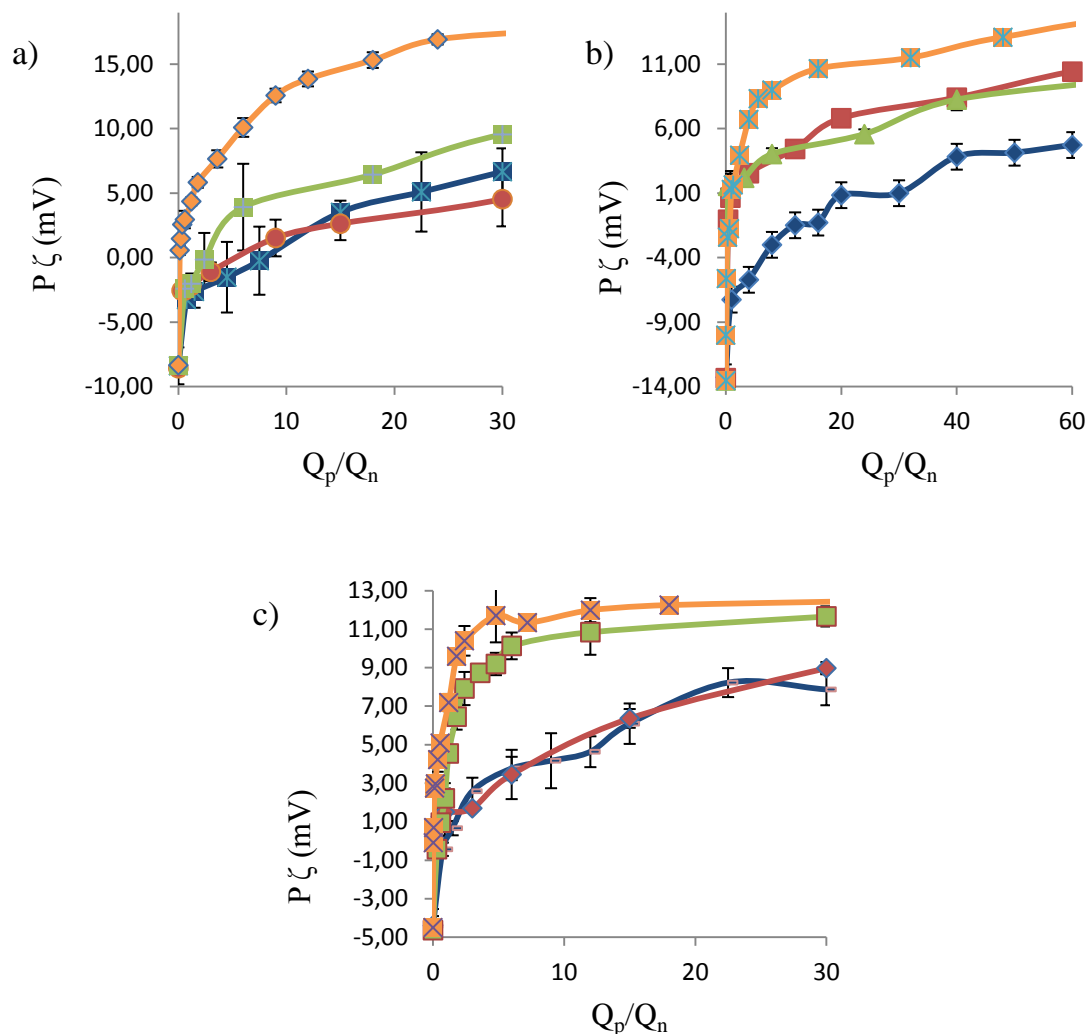


Figura 3.29 Potencial zeta ($P\zeta$) de los nanoconjugados péptido/46 (azul), 47 (rojo), 48 (verde) y 49 (Si-Naranja) a distintas ratios carga positiva:carga negativa (Q_p/Q_n) en a) P24, b) Nef y c) Gp160.

	46	47	48	49
P24	7.96	6.72	2.53	0.11
Nef	9.20	0.65	0.36	0.82
Gp160	1.05	0.32	0.39	0.03

Tabla 3.16 Ratios $Q_p:Q_n$ a los que los nanonconjugados péptido/dendrímtero alcanzan la electroneutralidad (obtenidos por interpolación).

Una vez alcanzado el punto isoelectrónico, a medida que se aumenta la cantidad de dendrímtero sobre la mezcla se produce un aumento del potencial zeta, que adquiere valores positivos hasta llegar a valores relativamente

constantes en los que el potencial zeta observado es principalmente debido al dendrímero al quedar oculto el péptido aniónico (Figura 3.29).

3.4.3 Dicroísmo circular (DC)

La estructura secundaria de las proteínas puede determinarse por espectroscopía de DC en la región de UV lejano (190 – 250 nm). A estas longitudes de onda se puede estudiar el enlace peptídico (enlace tipo amida), debido a los distintos patrones de absorción de la luz circularmente polarizada de las tres estructuras secundarias (hélice- α , hoja- β y random) generadas por distintos plegamientos regulares en un entorno.⁷⁹ La señal de DC refleja una media de la población molecular, por lo que no se puede determinar qué residuos concretos están implicados en cada tipo de estructura, aunque sí es posible analizar los cambios generados en cada una de las estructuras, por comparación de los espectros obtenidos con los teóricos (Figura 3.30).

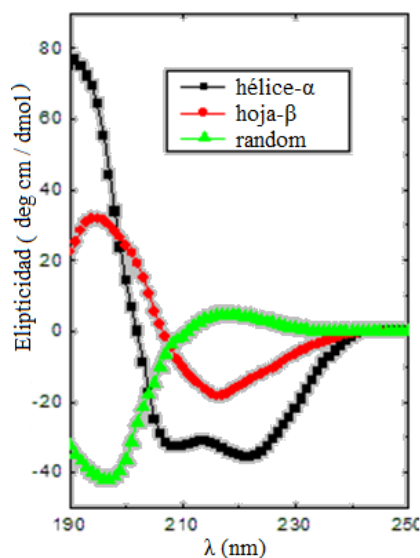


Figura 3.30 Patrones ideales de DC obtenidos para los distintos tipos de estructuras secundarias.

De los tres péptidos analizados, los dendrímeros forman con mayor dificultad nanoconjugados con Gp160, pues es el que, según los datos obtenidos por polarización de fluorescencia, precisa una ratio mayor de $Q_p:Q_n$ para formar por completo el nanoconjugado con el péptido (Tabla 3.15). Además el

dendrímico de cuarta generación presenta mayor dificultad para unir los péptidos aquí utilizados (Tabla 3.15). Por estas razones el péptido Gp160 y el dendrímico de cuarta generación fueron descartados de este estudio.

El espectro de dicroísmo circular del péptido aniónico P24 presenta un mínimo en torno a 198 nm correspondiente a la estructura secundaria tipo random de dicho péptido (Figura 3.31-a). Una vez formado el nanoconjugado P24/dendrímico se observan dos efectos que se hacen más patentes a medida que se aumenta la ratio $Q_p:Q_n$, la disminución de la intensidad de dicho pico y su desplazamiento a mayores λ (Figura 3.31-a y c), superior a medida que aumenta la generación (Figura 3.31-b).

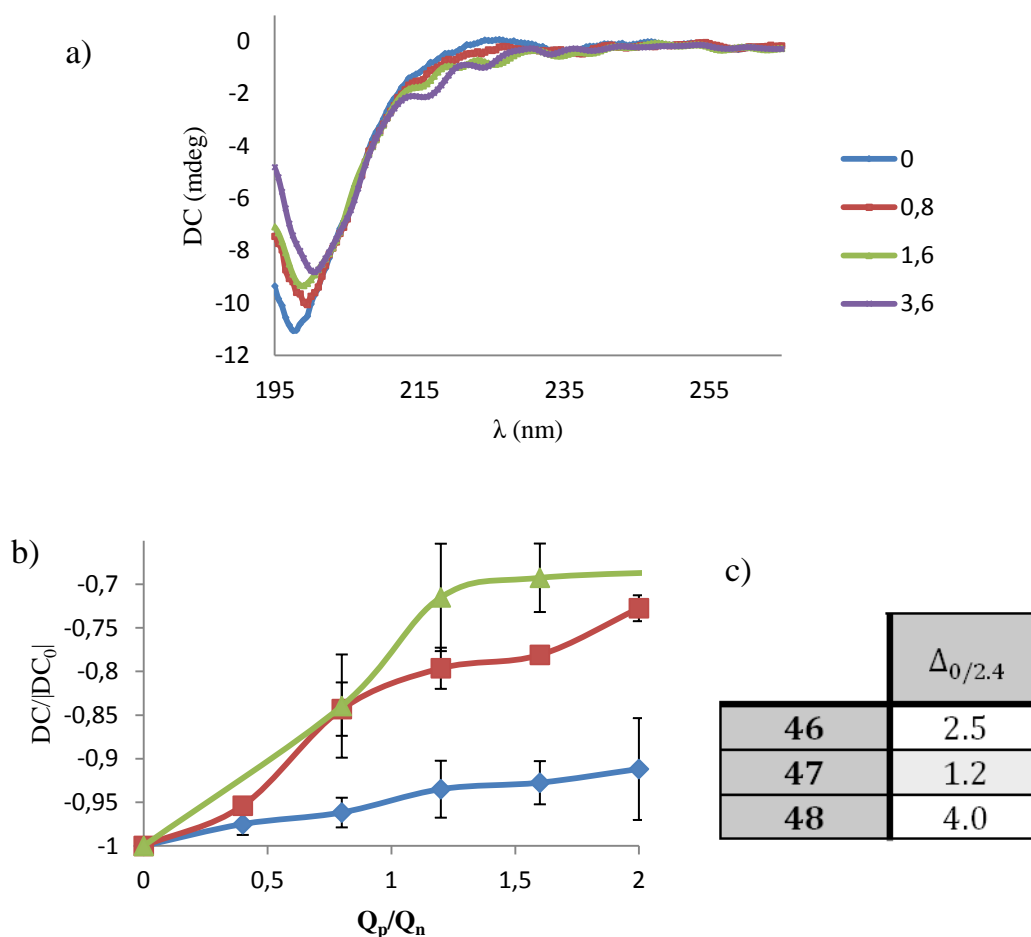


Figura 3.31 a) Espectro de dicroísmo circular (DC) del nanoconjugado P24/48 a distintas ratios $Q_p:Q_n$ b) Variación de la intensidad del pico a 197.7 nm ($DC/|DC_0|$) tras la formación de los nanoconjugados P24/46 (azul), 47 (rojo), y 48 (verde) y c) Desplazamiento a mayores λ del pico a 197.7 nm a ratio $Q_p:Q_n = 3.0$.

El espectro de dicroísmo circular de Nef presenta además del pico correspondiente a la estructura aleatoria, en este caso a 202 nm, un pico de menor intensidad en torno 225 nm, debido a las estructuras hélice- α y lámina- β . Tras la adición de dendrímico se observan variaciones en el pico de mayor intensidad (Figura 3.32), análogas a las obtenidas para P24 y además, el pico de menor intensidad, a 225 nm, aumenta su intensidad a medida que aumenta la ratio $Q_p:Q_n$, haciéndolo de nuevo de nuevo de manera más acusada a medida que aumenta la generación dendrítica (Figura 3.32-a).

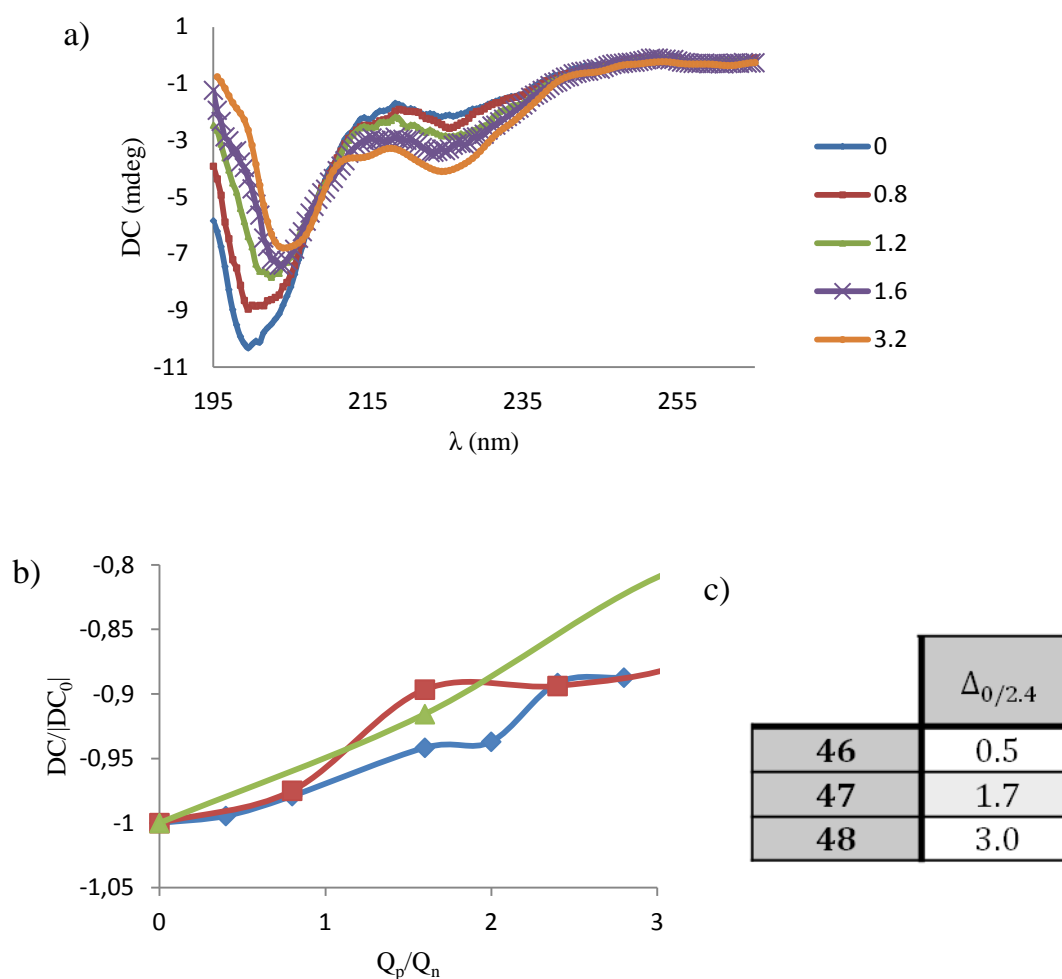


Figura 3.32 a) Espectro de dicroísmo circular (DC) del nanoconjugado Nef/48 a distintas ratios Q_p/Q_n b) Variación de la intensidad del pico a 201.5 nm ($DC/|DC_0|$) tras la formación de los nanoconjugados Nef/46 (azul), 47 (rojo), y 48 (verde) y c) Desplazamiento a mayores λ del pico a 201.5 nm a ratio $Q_p/Q_n = 2.4$.

Si bien estos cambios revelan la formación de nanoconjugados péptido/dendrímico, no se pudo calcular la ratio de complejación de todo el

péptido por esta técnica debido a que los dendrímeros interferían en la recogida de espectros cuando se encontraban a grandes concentraciones. Además, se debe resaltar que si bien se observaban cambios en la intensidad de los picos, la forma del espectro no se veía alterada en el caso del péptido derivado de P24, lo cual denota cambios conformacionales pero no de la estructura secundaria, evitando efectos adversos derivados de la alteración de la función del péptido.⁷⁹ Sin embargo, la forma del espectro sí se ve alterada en la unión del dendrímero al péptido derivado de Nef.

3.4.4 Conclusiones del apartado

Los estudios de polarización de fluorescencia y dicroísmo circular de los dendrímeros $G_nO_3(S-NMe_3^+)_m$ (**46-49**) con los péptidos aniónicos anti-VIH, P24, Nef y Gp160, muestran que todos estos derivados son capaces de formar nanoconjugados con dichos péptidos. Además parece que, de entre todas las opciones estudiadas, el nanoconjugado formado entre los dendrímeros de segunda y tercera generación, **47** y **48**, y el péptido P24, son los que se forman con mayor facilidad. Asimismo, la formación de dichos nanoconjugado no afecta la estructura secundaria del péptido P24, tal y como se pudo comprobar por dicroísmo circular.

Como ya se ha dicho, en el marco de un proyecto europeo, estos datos se completarán próximamente con otros estudios que muestren la capacidad para generar una respuesta inmune de estos nanoconjugados.

3.5 Materiales dendronizados como agentes de transporte de material nucleico

3.5.1 Nanopartículas de sílice mesoporosa como agentes de transfección frente al VIH

Uno de los principales problemas de los tratamientos actuales contra el sida es que resultan ineficaces frente a la forma latente del mismo no siendo curativos. Por ello, una forma interesante de abordar la infección por el VIH puede ser combinar algún fármaco que reactive a los virus que se encuentren en estado latente con algún tratamiento que evite que se infecten nuevas células. En este contexto y en colaboración con el grupo de las Dras. María Vallet Regí y Blanca González Ortiz de la Universidad Complutense de Madrid, se propuso emplear las nanopartículas de sílice mesoporosa dendronizadas, descritas en el apartado 2.7.4, para cargar un fármaco anti-latencia, briostatina,⁸⁰ y un fármaco antrirretroviral, maraviroc, en su interior, y poder así combinar la acción de dichos fármacos con un ARNpi (siNEF), complejado a la nanopartícula por la presencia de dendrones catiónicos en su superficie.

En primer lugar, se propuso comprobar la capacidad de transfección de las nanopartículas dendronizadas con un modelo, un ADN marcado con una molécula fluorescente (citocromo 3). El ensayo consistió en incubar los nanoconjugados en presencia de las células midiendo la fluorescencia del sobrenadante tras el tratamiento. Por lo tanto, a menor fluorescencia, la capacidad de transfección es mayor.

Tal y como se puede observar en la Figura 3.33, de los dos materiales sintetizados **MSNP-113**, la nanopartícula de sílice mesoporosa dendronizada con una cuña dendrítica de tercera generación con ocho grupos $-NMe_2$, presenta una mayor capacidad de transfección que es cercana al 100 % a ratios 1:10 de carga negativa:carga positiva.

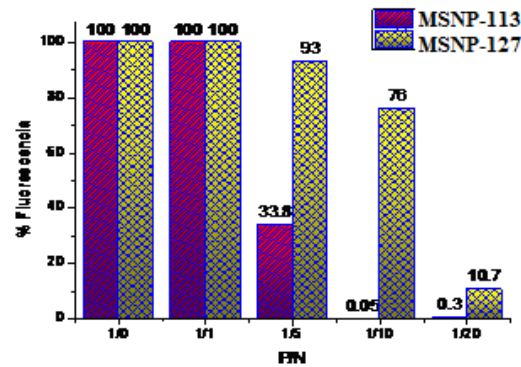


Figura 3.33 Transfección de ADN producida por los materiales de sílice mesoporosa. N/P se refiere a la ratio carga negativa:carga positiva.

Además se comprobó mediante microscopía que tanto la nanopartícula dendronizada **MSNP-113** (marcada con un fluoróforo en verde), como el ADN (marcado con un fluoróforo en rojo) colocalizan y se acumulan cerca del núcleo. Este dato corrobora el papel fundamental ejercido por la nanopartícula durante la transfección del material nucleico, confirmando además la utilidad de este compuesto en terapia génica. Actualmente nuestro grupo de investigación está llevando a cabo el resto de experimentos propuestos en los objetivos iniciales de este trabajo en el marco de un proyecto intramural del CIBER-BBN titulado NanoAntiLatHIV.

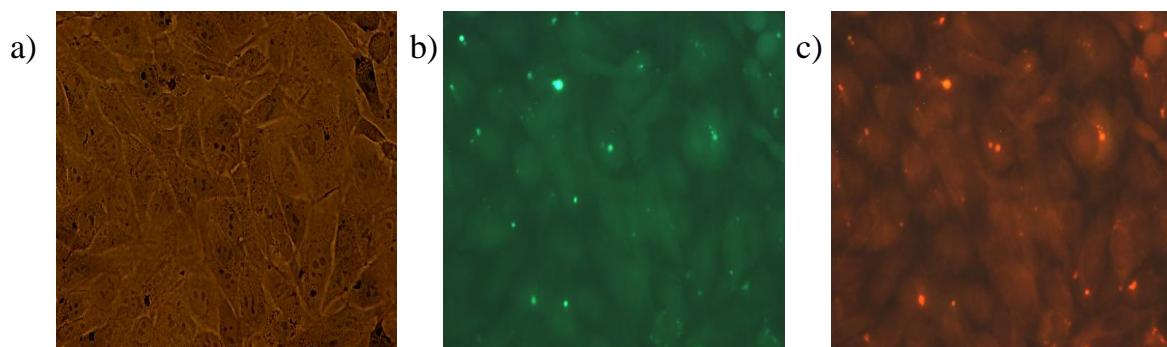


Figura 3.34 a) Células HOS tras el tratamiento con el nanoconjugado **MSNP-113/ADN**, b) localización de **MSNP-113** y c) del ADN utilizado.

3.5.2 Nanopartículas de ácido poli(láctico-co-glicólico) como agentes de transfección frente a adrenoleucodistrofia

En colaboración con el grupo de la Dra. Conxita Solans del Instituto de Química Avanzada de Catalunya en Barcelona, se propuso utilizar las nanopartículas poliméricas dendronizadas como agentes de transfección de ácidos nucleicos frente a adrenoleucodistrofia. La adrenoleucodistrofia ligada al cromosoma X es una enfermedad neurodegenerativa caracterizada por la destrucción de la vaina de mielina que rodea los nervios, causando problemas neurológicos. Con el fin de combatir esta enfermedad se puede emplear la terapia génica, pero los vectores empleados deberán ser capaces de cruzar la barrera hematoencefálica. Por ello, la utilización de nanopartículas PLGA, capaces de cruzar la barrera hematoencefálica,⁸¹ unidas a moléculas con un alto carácter hidrofóbico, como los dendrímeros carbosilano, también capaces de cruzar la barrera hematoencefálica (apartado 3.6), parece una opción adecuada.

Para este estudio se han elegido las nanopartículas dendronizadas de ácido poli(láctico-co-glicólico) descritas en el apartado 2.7.3. En primer lugar se utilizó como modelo un oligonucleótido complementario al ARNm del gen de la luciferasa que, si entra en el interior celular, es capaz de inhibir la fluorescencia generada por la misma. De esta forma, se medirán fluorescencias más bajas en aquellos cultivos en los que los nanoconjugados transfecten con mayor eficacia el oligonucleótido.

Los resultados de transfección del oligonucleótido utilizado se presentan como porcentajes normalizados de fluorescencia (Figura 3.35-a). Los materiales estudiados no parecen presentar grandes capacidades de inhibición pues tan sólo el material **PLGANP-127** a una concentración de 60 nM reduce la fluorescencia hasta un 38 %, lo cual implica una eficacia de transfección del 62 %. Se debe tener en cuenta que este ensayo se ha llevado a cabo en ausencia de suero y que las nanopartículas son agentes extraños en el organismo por lo que pueden ser fagocitadas por macrófagos. Con el fin de evitar este efecto, así como de mejorar la capacidad de transfección, se recubrieron los complejos **PLGANP-127/ARN**

con polietilenglicol (PEG) para obtener los materiales recubiertos **PLGANP-127/ARN/PEG**. Además, el PEG puede colaborar en la protección del material nucleico en el torrente sanguíneo, evitando la acción de las nucleasas.⁸² Este segundo ensayo se llevó a cabo en presencia de un 10 % de suero bovino fetal (SBF) para simular condiciones fisiológicas.

Tal y como era de esperar, y debido a la carga negativa de las proteínas del suero, la eficacia de transfección de **PLGANP-127** disminuye en presencia de SBF situándose en torno al 25 %.^{36a} Sin embargo, los nanoconjugados recubiertos con PEG, **PLGANP-127/ARN/PEG**, permiten alcanzar transfecciones de hasta el 90 % (Figura 3.35-b).

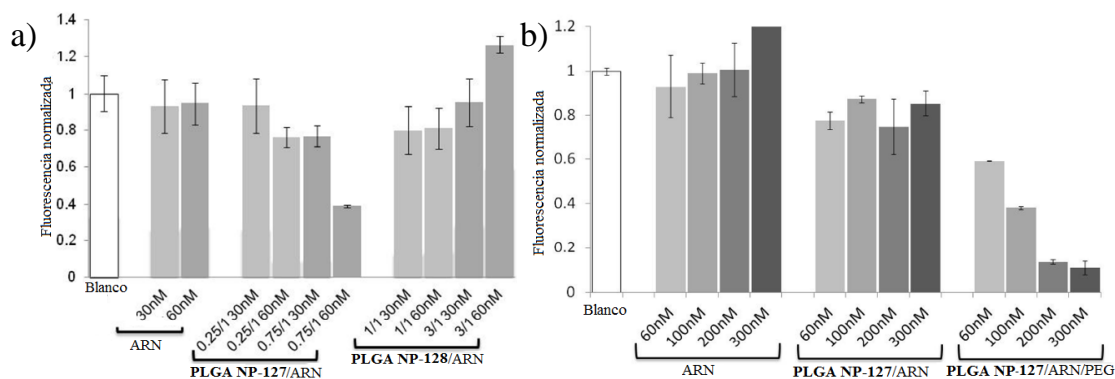


Figura 3.35 Inhibición de la actividad de la luciferasa producida en a) ausencia de suero b) presencia de un 10 % de suero bovino fetal.

3.5.3 Conclusiones del apartado

Los resultados obtenidos con los modelos empleados muestran que los materiales dendronizados suponen una alternativa como agentes transfectantes. En el caso de las nanopartículas de sílice mesoporosa, los mejores resultados se obtienen cuando están funcionalizadas con el dendrón de tercera generación $\text{NH}_2\text{G}_3(\text{S-NMe}_2)_8$, **MSNP-113**. Cuando se emplean nanopartículas de ácido poli(láctico-co-glicólico), los mejores resultados de transfección se obtienen cuando están funcionalizadas con el dendrón de segunda generación $\text{NH}_3^+\text{G}_2(\text{S-NMe}_3^+)_4$, **PLGANP-127**, y cuando el nanoconjugado formado se recubre con PEG.

3.6 Biodistribución de los dendrímeros carboxilano catiónicos

Un factor importante en las futuras aplicaciones de cualquier compuesto es la manera en la que el mismo se distribuye en el organismo. Además, un conocimiento adecuado de la biodistribución de un compuesto podría permitir incorporar las modificaciones necesarias en el mismo para conseguir el objetivo propuesto. Teniendo esto en cuenta, se estudió, en colaboración con el grupo de la Dra. M^a Ángeles Muñoz-Fernández del Hospital General Universitario Gregorio Marañón, la biodistribución *in vivo* del dendrímero marcado con fluoresceína $G_2O_3(NMeFITC)(S-NMe_3^+)_{11}$ (**67**).

La capacidad de las nanopartículas para permanecer en circulación es uno de los factores determinantes en las aplicaciones terapéuticas, ya que tiempos de circulación prolongados permiten a las nanopartículas llegar a los lugares de acción deseados. Pero para que ello ocurra, es necesario que el tamaño de las nanopartículas sea suficientemente grande como para evitar la eliminación renal, pero suficientemente pequeño como para minimizar la eliminación por el sistema de fagocitos mononuclear. Son las partículas de entre 10 y 200 nm las que parecen cumplir estas condiciones.⁸³

3.6.1 Biodistribución *in vivo* del dendrímero 67

Para estudiar la biodistribución del compuesto $G_2O_3(NMeFITC)(S-NMe_3^+)_{11}$ (**67**) en primer lugar se estudió la citotoxicidad de este derivado comprobando que es biocompatible hasta 5 μ M, dato idéntico al obtenido con el dendrímero análogo no marcado $G_2O_3(S-NMe_3^+)_{12}$ (**47**, apartado 3.3.1.1). A continuación, se inyectó el dendrímero a diferentes concentraciones en ratones, observándose la acumulación por fluorescencia en bazo, hígado, riñón y cerebro a distintos tiempos. Los tres primeros órganos se eligieron porque proporcionan información sobre el tiempo de circulación en sangre de las nanopartículas. El

cerebro fue incluido en este estudio porque, dado el carácter hidrofóbico del esqueleto carbosilano, podría ser capaz de cruzar la barrera hematoencefálica.

Así, se comprobó que el dendrímero **67** aparece en todos los órganos estudiados, aumentando la cantidad de compuesto acumulado en los mismos a mayores tiempos. La presencia en bazo denota tiempos de circulación elevados,⁸³ aunque mayores cantidades de compuesto llegan a hígado y riñón, especialmente durante los primeros minutos. Estos órganos están relacionados con el sistema circulatorio y la presencia del dendrímero en los mismos puede estar relacionada con procesos de eliminación relativamente rápidos (Figura 3.36).

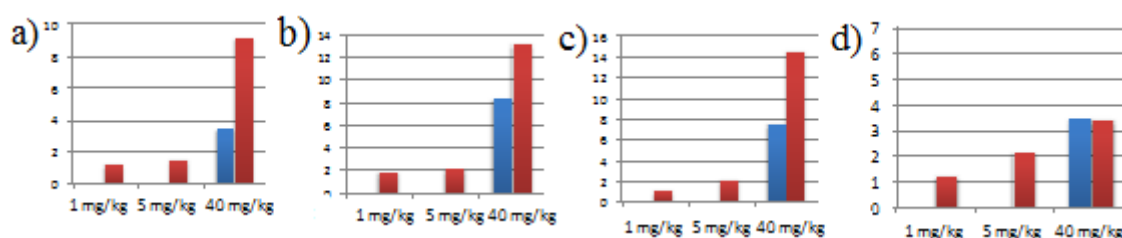


Figura 3.36 Intensidad de fluorescencia obtenida en a) bazo, b) hígado, c) riñón y d) cerebro tras el tratamiento con el dendrímero $G_2O_3(NMeFITC)(S-NMe_3^+)_{11}$ (**67**) a 30 minutos (azul) y 1 h (rojo).

La presencia del dendrímero **67** en bazo puede resultar interesante en la aplicación de estos dendrímeros contra el VIH al ser el órgano central del sistema linfático. Por último, su presencia en cerebro implica que estos compuestos son capaces de cruzar la barrera hematoencefálica. Este hecho puede favorecer su uso como agente de transporte no viral contra enfermedades de carácter neurológico como la adrenoleucodistrofia (apartado 3.5.2) o también contra el VIH (apartados 3.3.1, 3.4 y 3.5.1), puesto que el cerebro es uno de los reservorios de la forma latente del virus.

3.6.2 Biodistribución *in vivo* del nanoconjugado siNEF/67

Una vez comprobado que el dendrímero $G_2O_3(NMeFITC)(S-NMe_3^+)_{11}$ (**67**) se distribuye en distintas partes del organismo, decidimos comprobar la biodistribución del nanoconjugado de dicho compuesto con siNEF. Para ello, en primer lugar, se realizó un estudio de formación del nanoconjugado por electroforesis obteniéndose resultados similares a los obtenidos para el dendrímero sin marcar $G_2O_3(S-NMe_3^+)_{12}$ (**47**, apartado 3.3.1.2), es decir, el dendrímero forma el nanoconjugado a ratios 1:4 (carga negativa:carga positiva).

Una vez determinados los ratios de unión entre dendrímero y siNEF, se marcó el ARNpi con Cy5.5, un fluoróforo que emite en rojo y que, por tanto, es fácil de distinguir de los tejidos celulares y del dendrímero marcado empleado en este estudio. Finalmente realizamos un estudio de la biodistribución del nanoconjugado en bazo, hígado, riñón y nódulos linfáticos, comparando los resultados obtenidos con la biodistribución del dendrímero y del siNEF.

El bazo es el principal órgano del sistema de fagocitos mononuclear y en él se sitúan los macrófagos encargados de destruir las células sanguíneas viejas. El dendrímero fluoresceinado **67** es capaz de localizarse en el bazo a tiempos cortos, sin embargo, el ARNpi utilizado no llega al bazo (Figura 3.37). La formación del nanoconjugado entre siNEF y el dendrímero aquí utilizado permite la incorporación del material nucleico en este órgano. Un resultado similar se encuentra al analizar el hígado, en el cual no se localizan de manera significativa dendrímero o ARNpi de manera aislada, pero sí lo hace el nanoconjugado. La presencia del nanoconjugado en estos órganos denota tiempos de circulación más largos del material nucleico en presencia del dendrímero que en ausencia del mismo, probablemente debido al mayor tamaño del nanoconjugado,⁸⁴ así como a la protección que el dendrímero aporta al material nucleico frente al ataque de las proteínas del suero o nucleasas.^{36b; 48a}

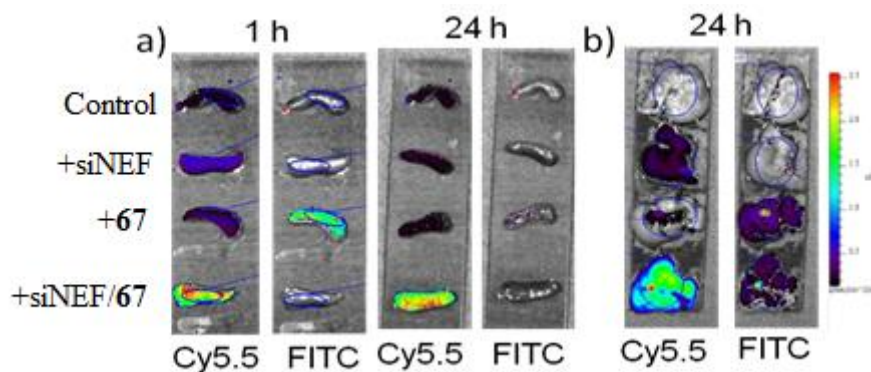


Figura 3.37 Distribución (de arriba a abajo) en ratones control e inyectados con siNEF, dendrímero $G_2O_3(NMeFITC)(S-NMe_3^+)_{11}$ (**67**) y siNEF/**67** (15 mg/kg) a) en bazo y b) hígado. El azul indica la menor fluorescencia mientras que el rojo la mayor.

Al realizar el estudio de biodistribución sobre riñón y nodos linfáticos se encontró que si bien tanto dendrímero como siNEF son capaces de acumularse en los mismos cuando se suministran de manera aislada, la formación del nanoconjugado evita su acumulación en estos órganos. La ausencia del nanoconjugado en riñón puede estar relacionada con el mayor tamaño del nanoconjugado que presenta tiempos de circulación más altos y no es eliminado por vía renal, como ocurre con dendrímero y ARNpi de manera aislada. En cuanto a los nodos linfáticos, fueron incluidos en este estudio al ser una parte fundamental del sistema inmunitario. La biodistribución específica en nodos linfáticos es complicada debido a que se encuentran distribuidos en distintos puntos del organismo. Desafortunadamente, la formación del nanoconjugado no parece aumentar la cantidad de ARNpi que llega a los mismos.

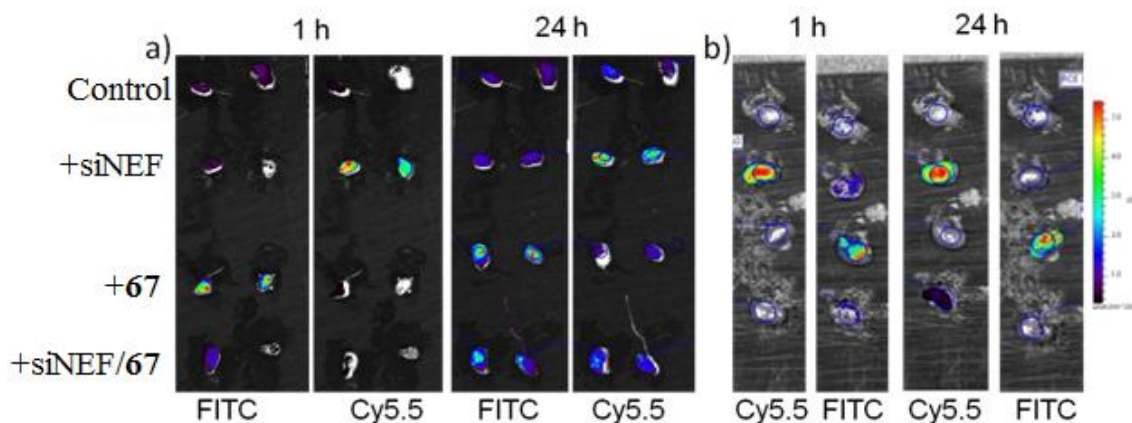


Figura 3.38 Distribución (de arriba a abajo) en ratones control e inyectados con siNEF, dendrímero $G_2O_3(NMeFITC)(S-NMe_3^+)_{11}$ (**67**) y siNEF/**67** (15 mg/kg) a) en nodos linfáticos y b) riñón. El azul indica la menor fluorescencia mientras que el rojo la mayor.

3.6.3 Conclusiones del apartado

Los resultados de biodistribución del dendrímero $G_2O_3(NMeFITC)(S-NMe_3^+)_{11}$ (**67**) muestran tiempos de circulación relativamente elevados, ya que dicho compuesto se distribuye en bazo, además de en hígado y riñón. Además este derivado es capaz de cruzar la barrera hematoencefálica, probablemente debido a la gran hidrofobia del esqueleto carbosilano.

En cuanto al nanoconjugado formado por dicho compuesto con siNEF, la presencia del mismo en hígado y bazo pero no en riñón, parece indicar mayores tiempos de circulación, así como que el dendrímero es capaz de proteger al ARNpi en el torrente sanguíneo.

Estos resultados resultan interesantes con el fin de utilizar este tipo de derivados en los tratamientos contra la infección del VIH, ya que el cerebro es uno de los reservorios de dicha enfermedad, así como otras enfermedades neurodegenerativas como el alzheimer o la esclerosis múltiple.

3.7 Bibliografía

- [1] van Dijk, M., Rijkers, D. T. S., Liskamp, R. M. J., van Nostrum, C. F., Hennink, W. E., *Bioconjugate Chem.* **2009**, *20*, 2001.
- [2] a) Astruc, D., Boisselier, E., Ornelas, C., *Chem. Rev.* **2010**, *110*, 1857; b) Rolland, O., Turrin, C. O., Caminade, A. M., Majoral, J. P., *New J. Chem.* **2009**, *33*, 1809; c) Svenson, S., Tomalia, D., *Adv. Drug Deliver. Rev.* **2005**, *57*, 2106; d) Svenson, S., *Eur. J. Pharm. Biopharm.* **2009**, *71*, 445; e) Mintzer, M. A., Grinstaff, M. W., *Chem. Soc. Rev.* **2011**, *40*, 173; f) Ortega, P., Bermejo, J. F., Chonco, L., de Jesús, E., de la Mata, F. J., Fernández, G., Flores, J. C., Gómez, R., Serramía, M. J., Muñoz-Fernández, M. A., *Eur. J. Inorg. Chem.* **2006**, 1388; g) Bermejo, J. F., Ortega, P., Chonco, L., Eritja, R., Samaniego, R., Müllner, M., de Jesús, E., de la Mata, F. J., Flores, J. C., Gómez, R., Muñoz-Fernández, A., *Chem. Eur. J.* **2007**, *13*, 483.
- [3] a) Boas, U., Heegaard, P. M. H., *Chem. Soc. Rev.* **2004**, *33*, 43; b) Matthews, B. R., Holan, G. **1995**; c) Gong, Y., Matthews, B., Cheung, D., Tam, T., Gadawski, I., Leung, D., Holan, G., Raff, J., Sacks, S., *Antivir. Res.* **2002**, *55*, 319.
- [4] a) Tulu, M., Erturk, A. S., *Dendrimers as antibacterial agents*. Search for Antibacterial Agents, InTech: **2012**; 89; b) Heredero-Bermejo, I., Copa-Patiño, J. L., Soliveri, J., García-Gallego, S., Rasines, B., Gómez, R., de la Mata, F. J., Pérez-Serrano, J., *Parasitol. Res.* **2013**, *112*, 961; c) Prieto, M. J., Bacigalupe, D., Pardini, O., Amalvy, J. I., Venturini, C., Morilla, M. J., Romero, E. L., *Int. J. Pharm.* **2006**, *326*, 160.
- [5] a) Dembitsky, V. M., *Eur. J. Med. Chem.* **2008**, *43*, 223; b) Liu, W., Liu, X., Knaebel, D., Luck, L., Li, Y., *Antimicrob. Agents Chemother.* **1998**, *42*, 911.
- [6] a) Zhao, Y., Tian, Y., Cui, Y., Liu, W., Ma, W., Jiang, X., *J. Am. Chem. Soc.* **2010**, *132*, 12349; b) Marambio-Jones, C., Hoek, E. M. V., *J. Nanopart. Res.* **2010**, *12*, 1531.
- [7] Pucci, M. J., Cheng, J., Podos, S. D., Thoma, C. L., Thanassi, J. A., Buechter, D. D., Mushtaq, G., Vigliotti, G. A., Brandbury, B. J., Deshpande, M., *Antimicrob. Agents Chemother.* **2007**, *51*, 1259.

- [8] Chanawanno, K., Chantrapromma, S., Anantapong, T., Kanjana-Opas, A., Fun, H.-K., *Eur. J. Med. Chem.* **2010**, *45*, 4199.
- [9] a) Murugan, E., Gopinath, P., Shanmugayya, V., Mathivanan, N., *J. Appl. Polym. Sci.* **2010**, *117*, 3673; b) Kenawy, E.-R., Mahmoud, Y. A. G., *Macromol. Biosci.* **2003**, *3*, 107; c) Chen, C. Z., Beck-Tan, N. C., Dhurjati, P., Van Dyk, T. K., LaRossa, R. A., Cooper, S. L., *Biomacromolecules* **2000**, *1*, 473; d) Majumdar, P., Lee, E., Gubbins, N., Stafslie, S. J., Daniels, J., Thomson, C. J., Chisholm, B. J., *Polymer* **2009**, *50*, 1124.
- [10] Wang, B., Navath, R. S., Menjoge, A. R., Balakrishnan, B., Bellair, R., Dai, H., Romero, R., Kannan, S., Kannan, R. M., *Int. J. Pharm.* **2010**, *395*, 298.
- [11] Weber, N., Ortega, P., Clemente, M. I., Shcharbin, D., Bryszewska, M., de la Mata, F. J., Gómez, R., Muñoz-Fernández, M. A., *J. Control. Release* **2008**, *132*, 55.
- [12] a) Rasines, B., Hernández-Ros, J. M., de las Cuevas, N., Copa-Patiño, J. L., Soliveri, J., Muñoz-Fernández, M. A., Gómez, R., de la Mata, F. J., *Dalton Trans.* **2009**, 8704; b) López, A. I., Reins, R. Y., McDermott, A. M., Trautner, B. W., Cai, C., *Mol. Biosyst.* **2009**, *5*, 1148.
- [13] Chen, C. Z., Beck-Tan, N. C., Dhurjati, P., Van Dyk, T. K., LaRossa, R. A., Cooper, S. L., *Biomacromolecules* **2000**, *1*, 473.
- [14] Dutta, T., Agashe, H. B., Garg, M., Balakrishnan, P., Kabra, M., Jain, N. K., *J. Drug Targeting* **2007**, *15*, 89.
- [15] Tziveleka, L.-A., Psarra, A.-M. G., Tsiourvas, D., Paleos, C. M., *J. Control. Release* **2007**, *117*, 137.
- [16] Jevprasesphant, R., Penny, J., Jalal, R., Attwood, D., McKeown, N. B., D'Emanuele, A., *Int. J. Pharm.* **2003**, *252*, 263.
- [17] a) Yang, H., Lopina, S. T., DiPersio, L. P., Schmidt, S. P., *J. Mater. Sci.: Mater. Med.* **2008**, *19*, 1991; b) Kim, Y., Klutz, A. M., Jacobson, K. A., *Bioconjugate Chem.* **2008**, *19*, 1660.
- [18] Kolhatkar, R. B., Kitchens, K. M., Swaan, P. W., Ghandehari, H., *Bioconjugate Chem.* **2007**, *18*, 2054.

- [19] Ortega, P., Copa-Patiño, J. L., Muñoz-Fernández, M. A., Soliveri, J., Gómez, R., de la Mata, F. J., *Org. Biomol. Chem.* **2008**, *6*, 3264.
- [20] Joshi, S., Shinde, S., Khinvasara, A., Joshi, B., *Pharma Util.* **2013**, *7*.
- [21] Yang, N., Mahato, R. I., *Delivery and targeting of oligonucleotides and siRNA en Targeted Delivery of Small and Macromolecular Drugs*. CRC Press: **2010**; 147.
- [22] Fire, A., Xu, S., Montgomery, M. K., Kostas, S. A., Driver, S. E., Mello, C. C., *Nature* **1998**, *391*, 806.
- [23] Caplen, N. J., Mousses, S., *Ann. N. Y. Acad. Sci.* **2003**, *1002*, 56.
- [24] a) Mello, C. C., Conte, D., *Nature* **2004**, *431*, 338; b) Riddihough, G., *Science* **2005**, *309*, 1507.
- [25] Krieg, A. M., Yi, A.-K., Matson, S., Waldschmidt, T. J., Bishop, G. A., Teasdale, R., Koretzky, G. A., Klinman, D. M., *Nature* **1995**, *374*, 546.
- [26] Wenzel, J., Tormo, D., Tuetting, T., *Handb. Exp. Pharmacol.* **2008**, *183*, 201.
- [27] a) Tokunaga, T., Yamamoto, H., Shimada, S., Abe, H., Fukuda, T., Fujisawa, Y., Furutani, Y., Yano, O., Kataoka, T., *J. Natl. Cancer Inst.* **1984**, *72*, 955; b) Field, A. K., Tytell, A. A., Lampson, G. P., Hilleman, M. R., *Proc. Nat. Acad. Sci. U. S.* **1967**, *58*, 1004.
- [28] a) Lehrman, S., *Nature* **1999**, *401*, 517; b) Ferber, D., *Science* **2001**, *294*.
- [29] de las Cuevas, N., García-Gallego, S., Rasines, B., de la Mata, F. J., Guijarro, L. G., Muñoz-Fernández, M. A., Gómez, R., *Curr. Med. Chem.* **2012**, *19*, 5052.
- [30] Karmali, P. P., Chaudhuri, A., *Med. Res. Rev.* **2007**, *27*, 696.
- [31] a) Merdan, T., Kunath, K., Petersen, H., Bakowsky, U., Voigt, K. H., Kopecek, J., Kissel, T., *Bioconjugate Chem.* **2005**, *16*, 785; b) Kunath, K., von Harpe, A., Fischer, D., Petersen, H., Bickel, U., Voigt, K., Kissel, T., *J. Control. Release* **2003**, *89*, 113.
- [32] Haensler, J., Szoka, F. C. J., *Bioconjugate Chem.* **1993**, *4*, 372.
- [33] Tang, M., Redemann, C. T., Szoka, F. C., Jr., *Bioconjugate Chem.* **1996**, *7*, 703.

- [34] Roberts, J. C., Bhalgat, M. K., Zera, R. T., *J. Biomed. Mater. Res.* **1996**, *30*, 53.
- [35] Kukowska-Latallo, J. F., Bielinska, A. U., Johnson, J., Spindler, R., Tomalia, D. A., Baker, J. R., Jr., *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **1996**, *93*, 4897.
- [36] a) Morales-Sanfrutos, J., Megía-Fernández, A., Hernández-Mateo, F., Girón-González, M. D., Salto-González, R., Santoyo-González, F., *Org. Biomol. Chem.* **2011**, *9*, 851; b) Santos, J. L., Oliveira, H., Pandita, D., Rodrigues, J., Pego, A. P., Granja, P. L., Tomas, H., *J. Control. Release* **2010**, *144*, 55.
- [37] Yoo, H., Juliano, R. L., *Nucleic Acids Res.* **2000**, *28*, 4225.
- [38] Liu, H., Wang, Y., Wang, M., Xiao, J., Cheng, Y., *Biomaterials* **2014**, *35*, 5407.
- [39] a) Zhang, X. Q., Wang, X. L., Huang, S. W., Zhuo, R. X., Liu, Z. L., Mao, H. Q., Leong, K. W., *Biomacromolecules* **2005**, *6*, 341; b) Kim, T.-I., Seo, H. J., Choi, J. S., Jang, H.-S., Baek, J., Kim, K., Park, J.-S., *Biomacromolecules* **2004**, *5*, 2487.
- [40] Zhou, J., Wu, J., Hafdi, N., Behr, J.-P., Erbacher, P., Peng, L., *Chem. Commun.* **2006**, 2362.
- [41] Zinselmeyer, B. H., Mackay, S. P., Schatzlein, A. G., Uchegbu, I. F., *Pharm. Res.* **2002**, *19*, 960.
- [42] Maszewska, M., Leclaire, J., Cieslak, M., Nawrot, B., Okruszek, A., Caminade, A. M., Majoral, J. P., *Oligonucleotides* **2003**, *13*, 193.
- [43] Briz, V., Serramía, M. J., Madrid, R., Hameau, A., Caminade, A. M., Majoral, J. P., Muñoz-Fernández, M. A., *Curr. Med. Chem.* **2012**, *19*, 5044.
- [44] Szewczyk, M., Drzewinska, J., Dzmitruk, V., Shcharbin, D., Klajnert, B., Appelhans, D., Bryszewska, M., *J. Phys. Chem. B* **2012**, *116*, 14525.
- [45] Okuda, T., Sugiyama, A., Niidome, T., Aoyagi, H., *Biomaterials* **2004**, *25*, 537.
- [46] Xin, G., Zhao, X., Duan, X., Ning, Q., Meng, M., Meng, D., Liu, L., *Cancer Biother. Radiopharm.* **2012**, *27*, 77.

- [47] a) Shcharbin, D., Pedziwiatr, E., Nowacka, O., Kumar, M., Zaborski, M., Ortega, P., de la Mata, F. J., Gómez, R., Muñoz-Fernandez, M. A., Bryszewska, M., *Colloid Surface B* **2011**, 83, 388; b) Pedziwiatr-Werbicka, E., Shcharbin, D., Maly, J., Maly, M., Zaborski, M., Gabara, B., Ortega, P., de la Mata, F. J., Gómez, R., Muñoz-Fernández, M. A., Klajnert, B., Bryszewska, M., *J. Biomed. Nanotechnol.* **2012**, 8, 57.
- [48] a) Shcharbin, D., Pedziwiatr, E., Chonco, L., Bermejo-Martín, J. F., Ortega, P., de la Mata, F. J., Eritja, R., Gómez, R., Klajnert, B., Bryszewska, M., Muñoz-Fernández, M. A., *Biomacromolecules* **2007**, 8, 2059; b) Chonco, L., Bermejo-Martín, J. F., Ortega, P., Shcharbin, D., Pedziwiatr, E., Klajnert, B., de la Mata, F. J., Eritja, R., Gómez, R., Bryszewska, M., Muñoz-Fernández, M. A., *Org. Biomol. Chem.* **2007**, 5, 1886.
- [49] a) Posadas, I., López-Hernández, B., Clemente, M. I., Jiménez, J. L., Ortega, P., de la Mata, J., Gómez, R., Muñoz-Fernández, M. A., Ceña, V., *Pharm. Res.* **2009**, 26, 1181; b) Jiménez, J. L., Clemente, M. I., Weber, N. D., Sánchez, J., Ortega, P., de la Mata, F. J., Gómez, R., García, D., López-Fernández, L. A., Muñoz-Fernández, M. A., *Biodrugs* **2010**, 24, 331.
- [50] Gras, R., Almonacid, L., Ortega, P., Serramía, M. J., Gómez, R., de la Mata, F. J., López-Fernández, L. A., Muñoz-Fernández, M. A., *Pharm. Res.* **2008**, 26, 577.
- [51] a) Sánchez-Nieves, J., Perise-Barrios, A. J., Ortega, P., Corbi, A. L., Domínguez-Soto, A., Muñoz-Fernández, M. A., Gómez, R., de la Mata, F. J., *RSC Adv.* **2013**, 3, 23445; b) Perise-Barrios, A. J., Jiménez, J. L., Domínguez-Soto, A., de la Mata, F. J., Corbi, A. L., Gomez, R., Muñoz-Fernández, M. A., *J. Control. Release* **2014**, 184, 51.
- [52] a) Arnáiz, E. Dendrímeros carbosilano vía "click-chemistry" para aplicaciones biomédicas. Tesis Doctoral, Universidad de Alcalá, Alcalá de Henares, **2012**; b) Rasines, B. Dendrímeros de estructura carbosilano y su uso como vectores no-virales en terapia génica y como agentes terapéuticos. Tesis Doctoral, Universidad de Alcalá, Alcalá de Henares, **2010**.

- [53] Arnáiz, E., Doucedo, L. I., García-Gallego, S., Urbiola, K., Gómez, R., Tros de Ilarduya, C., de la Mata, F. J., *Mol. Pharmaceut.* **2012**, *9*, 433.
- [54] Schilrreff, P., Cervini, G., Romero, E. L., Morilla, M. J., *Colloid Surface B* **2014**, *122*.
- [55] Ma, M., Cheng, Y., Xu, Z., Xu, P., Qu, H., Fang, Y., Xu, T., Wen, L., *Eur. J. Med. Chem.* **2007**, *42*.
- [56] Kesharwani, P., Tekade, R. K., Jain, N. K., *Biomaterials* **2014**, *35*, 5539.
- [57] Milhem, O. M., Myles, C., McKeown, N. B., Attwood, D., D'Emanuele, A., *Int. J. Pharm.* **2000**, *197*, 239.
- [58] Kaminskas, L. M., Kelly, B. D., McLeod, V. M., Boyd, B. J., Krippner, G. Y., Williams, E. D., Porter, C. J. H., *Mol. Pharmaceut.* **2009**, *6*, 1190.
- [59] Zhang, Y., Thomas, T. P., Lee, K. H., Li, M., Zong, H., Desai, A. M., Kotlyar, A., Huang, B., Banaszak Holl, M. M., Baker, J. R., Jr., *Bioorg. Med. Chem.* **2011**, *19*, 2557.
- [60] a) Chamorro, C., Boerman, M. A., Arnusch, C. J., Breukink, E., Pieters, R. J., *Biochim. Biophys. Acta.* **2012**, *1818*, 2171; b) Panya, A., Bangphoomi, K., Choowongkamon, K., Yenchitsomanus, P. T., *Chem. Biol. Drug Des.* **2014**, *84*, 148.
- [61] a) Ionov, M., Ciepluch, K., Rasines, B., Appelhans, D., Sánchez-Nieves, J., Gómez, R., de la Mata, F. J., Muñoz-Fernández, M. A., Bryszewska, M., *Curr. Med. Chem.* **2013**, *20*, 3935; b) Ionov, M., Ciepluch, K., Klajnert, B., Slawa, G., Gómez-Ramírez, R., de la Mata, F. J., Muñoz-Fernández, M. Á., Bryszewska, M., *Colloids Surf., B* **2013**, *101*, 236.
- [62] Binder, S., Levitt, A. M., Sacks, J. J., Hughes, A. M., *Science* **1999**, *284*, 1311.
- [63] Rasines, B., Sánchez-Nieves, J., Maiolo, M., Maly, M., Chonco, L., Jiménez, J. L., Muñoz-Fernández, M. Á., de la Mata, F. J., Gómez, R., *Dalton Trans.* **2012**, *41*, 12733.
- [64] <http://www.chemaxon.com/marvin/sketch/index.php>
- [65] Rasines, B., Sánchez-Nieves, J., Molina, I. T., Guzmán, M., Muñoz-Fernández, M., Gómez, R., de la Mata, F. J., *New J. Chem.* **2012**, *36*, 360.

- [66] Mishra, V., Gupta, U., Jain, N. K., *Pharmazie* **2010**, *65*, 891.
- [67] Ghobril, C., Lamanna, G., Kueny-Stotz, M., Garofalo, A., Billotey, C., Felder-Flesch, D., *New J. Chem.* **2012**, *36*, 310.
- [68] Xue, X., Chen, X., Mao, X., Hou, Z., Zhou, Y., Bai, H., Meng, J., Da, F., Sang, G., Wang, Y., Luo, X., *AAPS J.* **2013**, *15*, 132.
- [69] Fernández Álvarez, I. Uso terapéutico de dendrímeros sobre explantes esplénicos infectados con *Leishmania Infantum*. Trabajo Fin de Máster, Universidad de León, León, **2012**.
- [70] Khan, N., *Acanthamoeba: Biology and Pathogenesis*. Caister Academic Press: **2009**; 290.
- [71] Heredero-Bermejo, I., Copa-Patiño, J. L., Soliveri, J., Fuentes-Paniagua, E., de la Mata, F. J., Gómez, R., Pérez-Serrano, J., *Int. J. Parasitol.* **2014**, Pendiente de publicación.
- [72] Global Report: UNAIDS report on the global AIDS epidemic 2013, Joint United Nations Programme on HIV/AIDS - UNAIDS, **2013**.
- [73] a) Sprietsma, J. E., *Med. Hypotheses* **1999**, *52*, 529; b) Mocroft, A., Lundgren, J. D., *J. Antimicrob. Chemother.* **2004**, *54*, 10.
- [74] Kazmierczak-Baranska, J., Pietkiewicz, A., Janicka, M., Wei, Y., Turrin, C. O., Majoral, J. P., Nawrot, B., Caminade, A. M., *Nucleos. Nucleot. Nucl.* **2010**, *29*, 155.
- [75] a) Venkataraman, N., Cole, A. L., Svoboda, P., Pohl, J., Cole, A. M., *J. Immunol.* **2005**, *175*, 7560; b) Martellini, J. A., Cole, A. L., Venkataraman, N., Quinn, G. A., Svoboda, P., Gangrade, B. K., Pohl, J., Sorensen, O. E., Cole, A. M., *FASEB J.* **2009**, *23*, 3609; c) Asaftei, S., De Clercq, E., *J. Med. Chem.* **2010**, *53*, 3480; d) Asaftei, S., Huskens, D., Schols, D., *J. Med. Chem.* **2012**, *55*, 10405.
- [76] Sato, N., Kobayashi, H., Hiraga, A., Saga, T., Togashi, K., Konishi, J., Brechbiel, M. W., *Magnet. Reson. Med.* **2001**, *46*, 1169.
- [77] a) Alonso-Curbelo, D., Soengas, M. S., *Autophagy* **2010**, *6*, 148; b) Tormo, D., Checinska, A., Alonso-Curbelo, D., Pérez-Guijarro, E., Cañón, E., Riveiro-Falkenbach, E., Calvo, T. G., Larribere, L., Megías, D., Mulero, F.,

- Piris, M. A., Dash, R., Barral, P. M., Rodríguez-Peralto, J. L., Ortiz-Romero, P., Tuting, T., Fisher, P. B., Soengas, M. S., *Cancer Cell* **2009**, *16*, 103.
- [78] Ciepluch, K., Ionov, M., Majoral, J.-P., Muñoz-Fernández, M. A., Bryszewska, M., *J. Lumin.* **2014**, *148*, 364.
- [79] Kelly, S. M., Price, N. C., *Curr. Protein Pept. Sci.* **2000**, *1*, 349.
- [80] Pérez, M., García de Vinuesa, A., Sánchez-Duffhues, G., Márquez, N., Bellido, M. L., Muñoz-Fernández, M. A., Moreno, S., Castor, T. P., Calzado, M. A., Muñoz, E., *Curr. HIV Res.* **2010**, *8*, 418.
- [81] Danhier, F., Ansorena, E., Silva, J. M., Coco, R., Le Breton, A., Prétat, V., *J. Control. Release* **2012**, *161*, 505.
- [82] Avgoustakis, K., Beletsi, A., Panagi, Z., Klepetsanis, P., Livaniou, E., Evangelatos, G., Ithakissios, D. S., *Int. J. Pharm.* **2003**, *259*, 115.
- [83] Yoo, J. W., Chambers, E., Mitragotri, S., *Curr. Pharm. Des.* **2010**, *16*, 2298.
- [84] Ogawara, K. i., Yoshida, M., Higaki, K., Kimura, T., Shiraishi, K., Nishikawa, M., Takakura, Y., Hashida, M., *J. Control. Release* **1999**, *59*, 15.

Capítulo 4

Parte experimental

4.1 Condiciones generales de trabajo

La mayoría de las preparaciones sintéticas se realizaron bajo condiciones de manipulación habituales. Sin embargo, dada la sensibilidad a la humedad de algunos de los productos utilizados o para evitar reacciones secundarias, fue necesario trabajar en ocasiones en condiciones de atmósfera inerte, utilizando para ello técnicas de Schlenk en líneas de vacío/argón (argón de tipo UN-45 de Air-Liquide con cantidades de O₂ y H₂O menores de 3 ppm).

Todas las reacciones de adición tiol-eno se han llevado a cabo, previa desoxigenación, con irradiación con una lámpara de mercurio HPK 125 W Heraeus Noblelight con el máximo de emisión en $\lambda_{\text{máx}} = 365$ nm.

4.2 Materiales utilizados

Los reactivos y disolventes se utilizaron tal y como se recibieron de la casa comercial, excepto el NaH que se lavó previamente con hexano seco (3x10 ml) para eliminar el aceite que lo estabiliza. Los dendrímeros y dendrones precursores se sintetizaron tal y como está descrito en la bibliografía, indicándose la referencia en las preparaciones correspondientes.

Cuando fueron necesarias técnicas de schlenk, se utilizaron disolventes purificados mediante un sistema MB-SPS o secados, destilados y recogidos bajo atmósfera inerte utilizando métodos tradicionales tal y como se describe en la bibliografía.¹

Para transferir las disoluciones se han utilizado cánulas de acero flexible de 0.5-1 mm de espesor, para ser inyectadas se usaron tapones tipo Suba-seal, aplicando presión en el schlenk de origen con gas inerte. Las filtraciones se llevaron a cabo con la misma técnica, incorporando a uno de los extremos del tubo de acero una campana de vidrio de aproximadamente 8 mm de diámetro; en dicho cilindro se soporta el agente filtrante, un papel Whatman n° 40, o bien, doble papel con una capa de celite para conseguir un menor diámetro de poro.

18-Corona-6	Hidroquinona	N-(3-dimetilaminopropil)- N'-etilcarbodiimida
1,3-divinil-1,1,3,3-tetrametildisiloxano de Platino (0) (Catalizador de Karstedt)BrMgC ₃ H ₅	HS(CH ₂) ₂ NH ₂ ·HCl	NaCl
2,2'-Dimetoxi-2-fenilacetofenona (DMPA)	HS(CH ₂) ₂ NMe ₂ ·HCl	NaI
4-Dimetilaminopiridina	HS(CH ₂) ₂ OH	NaN ₃
C ₂ H ₃ MgCl	HSiMeCl ₂	Na ₂ SO ₄
C ₃ H ₅ MgBr	HSiMe ₂ Cl	Na ₂ CO ₃
C ₃ H ₅ NMe ₂	K ₂ CO ₃	NaOH
Etilénglicol	LiAlH ₄	NH ₄ Cl
Floroglucionol	MeI	Penicilina V potásica
Isotiocianato de fluoresceína isómero I	MgSO ₄	S-(+)-ibuprofeno
Ftalimida de potasio	N ₂ H ₄ ·xH ₂ O	

Tabla 4.1 Listado de reactivos empleados.

Las columnas cromatográficas de exclusión por tamaños se realizaron con una fase estacionaria de poliestireno (Bio-Beads SX-1 de Bio-Rad) y utilizando THF como eluyente.

Péptidos aniónicos

El péptido de Nef proviene de HIV-HXB2 localizado en Nef (172-191) con secuencia NH-GMDDPEREVLEWRFD SRLAF-COOH. Tiene 20 aa de longitud, carga 3 y una masa molecular de 2720.00.

El péptido de P24 proviene de HIV-HXB2 localizado en P24 (71-80) con secuencia NH-DTINEEAAEW-COOH. Tiene 10 aa de longitud, carga 4 y una masa molecular de 1535.50.

El péptido de la cubierta de Gp160 proviene de HIV-HXB2 localizado en Gp160 (634-648) con secuencia NH-EIDNYTNTIYTLLEE-COOH. Tiene 15 aa de longitud, carga 4 y una masa molecular de 2189.28.

Todos los péptidos fueron adquiridos en Eurogentec.

4.3 Técnicas instrumentales

Análisis elemental

Los análisis cuantitativos de C, H, N y S se llevaron a cabo con microanalizadores LECO CHNS-932 en el Centro de Apoyo a la Investigación Química de la Universidad de Alcalá (CAIQ-UAH).

Espectrofotometría UV-Vis

Los análisis UV-Vis se registraron mediante un espectrofotómetro Perkin-Elmer Lambda 18 o Lambda 35 UV-Vis en el CAIQ-UAH.

Espectroscopia FTIR

Los análisis IR-FT se registraron mediante un espectrómetro Perkin-Elmer SPECTRUM 2000 en el CAIQ-UAH. Las muestras se prepararon dispersándolas en pastillas de KBr. La resolución fue 4 cm^{-1} y se realizaron las medidas en métodos de absorbancia entre $370\text{-}4000\text{ cm}^{-1}$.

Espectrometría de masas

Los espectros de masas obtenidos por la técnica MALDI se registraron mediante un Espectrómetro Agilent 6210 TOF LC/EM en el CAIQ-UAH o Ultraflex III de Bruker en el Servicio Interdepartamental de Investigación de la Universidad Autónoma de Madrid (SIdI-UAM).

Los espectros de masas obtenidos mediante ESI se registraron en un espectrómetro de masas con analizador híbrido QTOF modelo QSTAR pulsar i de la casa comercial AB Sciex en el SIdI-UAM.

Espectroscopía de Resonancia Magnética Nuclear

Los espectros RMN- ^1H y ^{13}C se registraron en espectrómetros Varian Unity-500+, Unity-300, Mercury-300 y Gemini-200 del CAIQ-UAH. Los espectros HMBC $\{^1\text{H}-^{29}\text{Si}\}$, HMBC $\{^1\text{H}-^{15}\text{N}\}$ y experimentos de difusión DOSY-2D fueron realizados a 25 °C en un espectrómetro Bruker AV400 del grupo de investigación Comorproca de la UAH. Todos los espectros se realizaron a temperatura constante y los desplazamientos químicos (δ , ppm) se midieron relativos a la señal residual de ^1H y ^{13}C de los disolventes deuterados. En los espectros de ^{29}Si se tomó como referencia tetrametilsilano (TMS) y en los de ^{15}N nitrometano.

El radio hidrodinámico se calculó a partir del coeficiente de difusión utilizando la fórmula de Stokes-Einstein:

$$D = \frac{kT}{6\pi\eta R}$$

donde D es el coeficiente de difusión, k es la constante de Boltzmann, T es la temperatura absoluta, η es la viscosidad y R es el radio suponiendo que la partícula es esférica.

Se realizaron experimentos TOCSY (Total Correlation Spectroscopy, para determinar los acoplamiento escalares entre protones de un mismo sistema de espín), HSQC $\{^1\text{H}-^{13}\text{C}\}$ (Heteronuclear Single Quantum Correlation, para correlacionar el desplazamiento químico de los protones con los carbonos, a través de las interacciones de acoplamiento entre dicho núcleos), HMBC (Heteronuclear Multiple-Bond Connectivity, para correlacionar el desplazamiento químico de los protones con los ^{29}Si o ^{15}N , a través de las interacciones de acoplamiento entre ambos núcleos a larga distancia) y DOSY-2D (Diffusion Ordered Spectroscopy, que permite determinar los componentes de una mezcla en función de sus distintos coeficientes de traslación).

Polarización de fluorescencia

Las muestras fueron preparadas por incubación de 0.2 μM de péptido marcado a varias concentraciones de dendrímero en PBS (disolución reguladora salina de fosfato) 10 mmol/l y $\text{pH} = 7.5$ a temperatura ambiente (aproximadamente 22 $^{\circ}\text{C}$). El incremento de la polarización se midió usando un espectrofluorímetro PerkinElmer LS-50B (UK) del Departamento de Biofísica General de la Universidad de Łódź.

Para P24 la polarización se midió a 530 nm ($\lambda_{\text{ex}} = 495$ nm) con una polarización inicial de 0.032 ± 0.003 . Para Nef la polarización se midió a 532 nm ($\lambda_{\text{ex}} = 497$ nm) con una polarización inicial de 0.051 ± 0.001 . Para Gp160 la polarización se midió a 592 nm ($\lambda_{\text{ex}} = 554$ nm) con una polarización inicial de 0.097 ± 0.006 . La anchura del haz de luz fue de 5 nm para la excitación y 3 nm para la emisión.

La polarización se expresa como:

$$P = \frac{F_{\parallel} - G F^{\perp}}{F_{\parallel} + G F^{\perp}}$$

donde F_{\parallel} y F^{\perp} son la intensidad de fluorescencia paralela y perpendicular a la luz polarizada inicial, respectivamente. El factor G (calculado por el software de Perkin Elmer) tiene en cuenta efectos instrumentales

$$G = \frac{F^{\perp\parallel}}{F^{\perp\perp}}$$

donde $F^{\perp\parallel}$ y $F^{\perp\perp}$ son la intensidad de emisión polarizada paralela y perpendicular, respectivamente, cuando se utiliza luz perpendicular para excitar la molécula.² La polarización de cada muestra se midió como promedio de 6 medidas, realizándose cada experimento por triplicado o cuadruplicado.

Los ratios de unión de los nanoconjugados se calcularon como la intersección de la recta tangente a la parte inicial de la curva, con crecimiento acusado, y la recta tangente al plató.

Potencial zeta

Las medidas de carga superficial se realizaron en un equipo de dispersión de luz Nano-ZS, Malvern Instruments, UK, del Departamento de Biofísica General de la Universidad de Łódź. La movilidad electroforética de la dispersión de luz dinámica en las muestras de un potencial eléctrico fue medido en cubetas de plástico adquiridas a Malvern (DTS1061). Las muestras se prepararon y midieron en PBS 10 mmol/l, pH = 7.5 y temperatura ambiente (aproximadamente 22 °C), filtrándose con un filtro de 22 nm antes de realizar la medida. La concentración inicial de péptido fue de 5 μM para P24, 3 μM para Nef y 5 μM para Gp160. El potencial zeta, calculado por el software utilizando la ecuación de Helmholtz-Smoluchowski,³ se midió como promedio de 10 medidas, realizándose cada experimento por triplicado.

Dicroísmo circular

Las medidas de dicroísmo circular se realizaron en un espectropolarímetro JASCO J-815 del Departamento de Biofísica General de la Universidad de Łódź. A las muestras de péptido preparadas en Na-PBS 10 mmol/l y pH = 7.5 a temperatura ambiente (aproximadamente 22 °C) a una concentración de 10 μM (P24) o 15 μM (Nef), se les añadieron concentraciones crecientes de dendrímero con el fin de comprobar cómo la adición de dendrímero afectaba a la estructura secundaria del péptido.

Los espectros se registraron en un rango de 195 a 260 nm en una cubeta de cuarzo de 0.5 cm de ancho. Los espectros fueron registrados por cuadruplicado a una velocidad de 50 nm/s y con una resolución de 0.5 nm. Los espectros finales fueron corregidos sustrayendo el espectro del dendrímero en ausencia de péptido.

HPLC

La monitorización de la liberación del ibuprofeno por HPLC se realizó en un equipo Agilent Technologies 1200 series con una columna Eclipse XDB-C18

5 μm (Agilent) de 4.6x150 mm, a una velocidad de flujo de 1 ml/min y detectando el pico del ibuprofeno a 154 nm a 10.39 minutos.

Con el fin de cuantificar la cantidad de ibuprofeno liberado se realizó una recta de calibrado de ibuprofeno con concentraciones entre 14 y 275 mg/l. Posteriormente se realizaron disoluciones de cada uno de los compuestos a concentraciones conocidas situadas en torno a 200 mg/l a las que se añadió 1 unidad de esterasa por cada μmol de compuesto de esterasas de hígado de cerdo (PLE, Sigma Aldrich) y la muestra se dejó incubar a temperatura ambiente durante distintos tiempos. Con el fin de comprobar que todo el ibuprofeno podía ser liberado, se añadió más esterasa a las muestras finales comprobando que en exceso de esterasas era posible liberar todo el fármaco.

Medidas de pH

Las medidas de pH se han realizado con un pH metro Basic 20+ de Crison.

La valoración potenciométrica se realizó mediante pequeñas adiciones de una disolución de NaOH (1.8 μM) a una disolución del dendrímero (38.5 mg) en agua a un pH inicial de 2.

Microscopía de transmisión electrónica (TEM)

La microscopía de transmission electronic (TEM) se realizó en la Universidad de Alcalá con la ayuda del servicio de microscopía del Centro de Apoyo a la Investigación de Medicina y Biología. Se usó un TEM ZEISS EM10 con lentes de 30 μm y una cámara integrada 1K CCD Camera, operando con un voltaje de 100 kV y con 0.2 nm de resolución. Las muestras se prepararon añadiendo una gota de disolución en rejillas recubiertas de carbon y dejándolas secar previamente a la observación. El tamaño de partícula se calculó usando Image J.

4.4 Ensayos biomédicos de las macromoléculas dendríticas como agentes antibacterianos

Los ensayos biomédicos de los compuestos sintetizados como agentes antibacterianos se realizaron en el Departamento de Biomedicina y Biotecnología de la Universidad de Alcalá en el grupo de los Dres. José Luis Copa Patiño, Juan Soliveri de Carranza y José Manuel Hernández Ros. Todos los ensayos relatados a continuación se realizaron en condiciones de esterilidad en una cabina de seguridad biológica Telstar Bio II-A de flujo laminar vertical.

Medida de la capacidad antibacteriana

La medida de la capacidad antibacteriana de los productos sintetizados se realizó mediante el estudio de su concentración mínima inhibitoria (CMI) y su concentración mínima bactericida (CMB), frente a la bacteria gram negativa *Escherichia coli* (CECT 515) y frente a las gram positivas *Staphylococcus aureus* (CECT 240) y *Staphylococcus aureus* (CECT 4004), esta última, resistente a antibióticos β -lactámicos (penicilina). Estas cepas se obtuvieron de la Colección Española de Cultivos Tipo (CECT). El resto de las bacterias resistentes (a gentamicina y tetraciclina) utilizadas en los ensayos, fueron aisladas a partir del experimento de inducción de resistencias.

Para el cálculo de la CMI de los productos sintetizados, se sigue el método internacional de referencia para su estudio por microdilución, empleando placas microtiter de 96 pocillos (ISO 20776-1).⁴ Los ensayos se realizan por sextuplicado en la misma placa.

De acuerdo con dicho método, se preparan diluciones del biocida en el rango de 0.25 a 1024 ppm, de tal modo que en cada pocillo de la placa se añaden 100 μ l de cada una de dichas disoluciones, 100 μ l de medio Mueller Hinton (Scharlau, ref. 02-136) de doble concentración y 5 μ l de inóculo bacteriano de 2×10^7 UFC/ml en cada uno de los pocillos, quedando una concentración final de 5×10^5 UFC/ml del microorganismo a ensayar. En dichas placas se añaden también

un control positivo de crecimiento bacteriano (sin antibiótico) y dos controles de no contaminación (sin inocular).

Una vez inoculadas, las placas, se incuban con agitación a intervalos de una hora a 37 °C durante 19 h usando una lectora de placas multipocillo ELX808iu (Bio-Tek Instruments). Cada hora se mide la absorbancia a 630 nm, con el fin de poder obtener las curvas de crecimiento. La CMI es aquella concentración en la que no se observa turbidez tras 19 h de incubación.

La CMB se evalúa inoculando por cuadruplicado placas Petri, conteniendo PCA (Scharlau, ref. 01-161), con cada una de las concentraciones probadas en el ensayo de la CMI. Tras 24 h de incubación a 37 °C se observa la presencia o ausencia de crecimiento del microorganismo. La CMB se define como la concentración mínima de producto en la que no se observaba crecimiento en las placas Petri.

Ensayos de estabilidad

Para los ensayos de estabilidad, se incuban cada uno de los dendrímeros a una concentración igual a la de su CMI en distintas condiciones de pH (5, 7 ó 9), temperatura (20, 40 ó 60 °C) y tiempo (6, 27 ó 48 h), combinadas aleatoriamente por el software estadístico utilizado. A continuación se estudia el crecimiento de los microorganismos de manera análoga a la utilizada para el cálculo de la CMI y se utilizan las absorbancias finales para calcular el porcentaje de inhibición en cada una de las condiciones ensayadas. Por último se utiliza el software Statgraphics Centurion XV para realizar el modelo de superficie de respuesta Box-Behnken.

Actividad antibacteriana en presencia de esterasas

Para el estudio de liberación de penicilina en presencia de esterasas, se mezcla 1 μmol del compuesto **156** con 1 unidad de esterasa de hígado de cerdo (PLE, Sigma Aldrich) en PBS y se preincuba a 37 °C durante intervalos de tiempo que oscilan entre 0 h y 240 h. Finalmente, se calculan la CMI y la CMB.

Ensayos de adquisición de resistencias

La inducción de resistencias en *E. coli* (CECT 515) y *S. aureus* (CECT 240) se estudia mediante el cálculo de la CMI durante 15 ciclos, tal y como se detalla a continuación.

En primer lugar, se calcula la CMI del compuesto a estudiar. Tras este primer ciclo, se prepara una suspensión de 2×10^7 UFC/ml de las bacterias tratadas con una concentración inmediatamente inferior a la de la CMI. A continuación se vuelve a evaluar la CMI repitiendo este proceso durante 15 ciclos. Finalmente, se calcula el grado de resistencia por división de la última CMI entre la CMI inicial (CMI_{15}/CMI_1).

Actividad hemolítica

Para medir la actividad hemolítica de los compuestos dendríticos, se resuspenden 1.5 ml de eritrocitos de oveja en Alsever (Oxoid, SR0053) en 5 ml de PBS y se lavan tres veces por centrifugación durante 15 min a 3000 rpm (Beckman Coulter J2-MC Centrifuge). Una vez lavados se resuspenden en 20 ml de PBS. A continuación se realizan diluciones de biocida con concentraciones en el rango de 0.25 a 1024 ppm con PBS o una disolución isotónica de NaCl al 0.9 %, para los derivados $G_n Y(S-NH_3^+)_m$.

Posteriormente, se añaden 0.5 ml de suspensión recién preparada de eritrocitos a 0.5 ml de cada disolución de dendrímico en tubos eppendorf. A continuación, dicha mezcla se mantiene a 37 °C y bajo agitación durante 30 min. Después las mezclas se centrifugaron durante 5 min a 1500 rpm y se transfirió el sobrenadante a un nuevo tubo eppendorf. El porcentaje de hemoglobina liberada se calcula midiendo la absorbancia a 412 nm (A_c) en un espectrofotómetro UV-160A, Shimadzu. El control de hemólisis total (100 %) se realiza mezclando 0.5 ml de suspensión de eritrocitos con 0.5 ml de agua destilada. Como blanco se usa una mezcla de 0.5 ml de la suspensión de eritrocitos con 0.5 ml de PBS.

El porcentaje de hemolisis se calcula para cada una de las concentraciones estudiadas como $(A_c/A_{100})100$. La concentración que produce el 20 % de hemolisis (H_{20}) se obtiene por interpolación entre los dos puntos más próximos, o extrapolación en aquellos casos en los que la H_{20} no se alcanza para la concentración de 1024 ppm. Los experimentos se realizan por triplicado.

4.5 Descripción de las preparaciones

4.5.1 Métodos sintéticos

4.5.1.1 Método sintético 1: Hidrosililación

1a) De alildimetilamina con dendrímeros y dendrones que contienen grupos Si-H periféricos

En una ampolla de vidrio con llave de teflón se introduce una disolución del compuesto precursor con enlaces Si-H terminales $G_nY(SiH)_m$ ó $YG_n(SiH)_m$ en la mínima cantidad de THF seco. A dicha disolución se añade el catalizador de Karstedt (3% molar con respecto a los grupos olefina) y un exceso de alildimetilamina, $C_3H_5NMe_2$ (2 equivalentes por enlace Si-H). Posteriormente se calienta a 60 °C en atmósfera inerte durante 16 h comprobándose la terminación de la reacción por RMN- 1H .

Para aislar el producto y purificarlo, se evapora a vacío la disolución y se le añade hexano. Esta disolución se agita durante 15 minutos y a continuación se filtra utilizando carbono activo previamente secado. El disolvente se evapora a vacío para obtener el derivado deseado.

1b) De dendrímeros y dendrones que contienen dobles enlaces terminales con HSiMeCl₂ o HSiMe₂Cl

Se sigue un procedimiento análogo al protocolo 1a pero la reacción se realiza en la mínima cantidad de hexano seco y utilizando dos equivalentes de HSiMeCl₂ o HSiMe₂Cl con respecto al número de dobles enlaces terminales. En este caso la reacción se realiza calentando a 40 °C en atmósfera inerte.

4.5.1.2 Método sintético 2: Alquenilación de dendrímeros y dendrones que contienen grupos –SiMeCl₂ con haluros de alquil magnesio

A una disolución del compuesto precursor con grupos Si-Cl terminales en Et₂O seco, se añaden lentamente a 0 °C y bajo agitación 1.2 equivalentes, con respecto a la cantidad de enlaces SiMeCl₂, del haluro de alquilmagnesio RMgX correspondiente disuelto en THF o Et₂O. En el caso del cloruro de vinil magnesio, la reacción se deja a reflujo bajo atmósfera inerte durante 4 h y posteriormente 16 h más a temperatura ambiente. En el caso del bromuro de alil magnesio se deja reaccionar la mezcla durante 16 h a temperatura ambiente.

Transcurrido este tiempo se trata la mezcla de reacción con una disolución saturada de NH₄Cl en agua y por último se lleva a cabo una extracción Et₂O/NH₄Cl (ac). La fase orgánica se seca con MgSO₄ y posteriormente se agita con SiO₂ durante 5 minutos. Finalmente se filtra la disolución y se evapora para obtener los derivados deseados.

4.5.1.3 Método sintético 3: Sustitución de grupos –Cl por –H en dendrímeros y dendrones que contienen grupos –SiMe₂Cl terminales

Una disolución en Et₂O seco del dendrímero G_nX(SiCl)_m o dendrón XG_n(SiCl)_m se añade lentamente y a una disolución en Et₂O seco de LiAlH₄ a 0 °C. La mezcla se mantiene a 0 °C durante una hora y a continuación se deja que tome temperatura ambiente y se agita durante 16 h. Una vez transcurrido este

tiempo la mezcla se añade sobre una disolución saturada de NaCl en agua a 0 °C y se realiza una extracción Et₂O/H₂O. La fase orgánica se seca con MgSO₄. Finalmente se filtra la disolución y se evapora para obtener los derivados deseados.

4.5.1.4 Método sintético 4: Síntesis de dendrímeros y dendrones catiónicos por adición de MeI a macromoléculas que contienen grupos -NMe₂ terminales

Se trasvasa a un schlenck la cantidad adecuada de G_nX(NMe₂)_m o XG_n(NMe₂)_m y se disuelve en Et₂O, THF seco o una mezcla de ambos disolventes, en función de la solubilidad del producto. A continuación, se añaden a temperatura ambiente y con agitación un exceso de MeI (2 equivalentes en los compuestos obtenidos por hidrosililación y 1.05 equivalentes en los compuestos obtenidos por adición tiol-eno) por grupo -NMe₂. La disolución se deja con agitación durante una noche bajo atmósfera inerte. Al evaporar los volátiles se obtiene el producto puro que se lava con hexano. Los dendrímeros se almacenan bajo atmósfera seca debido a su carácter higroscópico.

4.5.1.5 Método sintético 5: Acoplamiento de dendrones con bromo en el punto focal a 1,3,5-trihidroxibenceno

A una disolución en acetona del dendrón con bromo en el punto focal, se añaden 2 equivalentes de K₂CO₃, 0.1 equivalentes de éter corona 18-corona-6 y el fenol requerido en condiciones estequiométricas para la total sustitución de los grupos fenoles. La mezcla se calienta en acetona a 90 °C y en atmósfera inerte en una ampolla con llave de teflón durante 3 días para la primera generación, 7 días para la segunda y 20 días para la tercera. Finalmente se eliminan los volátiles a vacío. A continuación se realiza una extracción con Et₂O y una disolución acuosa de NH₄Cl (Et₂O/NH₄Cl (ac)) y la fase orgánica se seca con MgSO₄ y 5 minutos extra con SiO₂. Se filtra la disolución y se evaporan los volátiles obteniéndose los derivados deseados.

4.5.1.6 Método sintético 6: Hidrotiolación de dobles enlaces

6a) Homofuncionalización

A una disolución del dendrímero o dendrón con grupos vinilo terminales en una mezcla de THF/MeOH (1:2) se añaden 1.05 equivalentes del reactivo comercial hidrocloreto de cisteamina, $\text{HS}(\text{CH}_2)_2\text{NH}_2\cdot\text{HCl}$, o hidrocloreto de 2-(dimetilamino)etanotiol, $\text{HS}(\text{CH}_2)_2\text{NMe}_2\cdot\text{HCl}$, y el fotoiniciador, 2,2-dimetoxi-2-fenilacetofenona (DMPA), en un 5% mol con respecto al número de dobles enlaces. La mezcla se desoxigena con argón y se deja agitando 1.5 h bajo una lámpara UV con $\lambda_{\text{máx}} = 364$ nm. Transcurrido este tiempo se añade otro 5 % mol con respecto al número de dobles enlaces de DMPA y se desoxigena de nuevo. Tras otras 1.5 h de reacción se elimina el disolvente por evaporación y se purifica el dendrímero por nanofiltración en agua con una membrana de corte adecuado. Los productos se secan a vacío.

Alternativamente, cuando se utiliza hidrocloreto de cisteamina se puede precipitar el producto deseado del bruto de reacción utilizando una mezcla de metanol-isopropanol obteniéndose rendimientos similares por ambos métodos.

6b) Heterofuncionalización

Se realiza siguiendo un procedimiento similar al descrito en el protocolo 6a. Se añade en primer lugar el tiol que presentará menor proporción en la cantidad y estequiometría necesaria junto al DMPA necesario, 5 % mol con respecto al número de dobles enlaces a sustituir con el mismo. La mezcla en THF/MeOH (1:2) se desoxigena y se deja reaccionar durante 30 minutos. Estos derivados se pueden aislar evaporando la mezcla de reacción y realizando una columna de tamaños en THF como eluyente. Si no se desean aislar, se puede continuar la reacción añadiendo 1.05 equivalentes por cada doble enlace que queda en la molécula de hidrocloreto de 2-(dimetilamino)etanotiol, $\text{HS}(\text{CH}_2)_2\text{NMe}_2\cdot\text{HCl}$, junto a la cantidad necesaria de DMPA, 5% mol con respecto al número de dobles enlaces. La reacción se desoxigena y se deja cuatro

horas más tras las cuales se procede a la purificación de manera análoga a la empleada en el protocolo 6a.

4.5.1.7 Método sintético 7: Desprotonación de los grupos –NR₂·HCl

A una disolución de dendrímero o dendrón con grupos –NR₂·HCl terminales en una mezcla de H₂O/CHCl₃ (1:1) se añade una disolución acuosa de NaOH ó Na₂CO₃ (1.3 equivalentes con respecto al número de grupos amonio terminales). La mezcla de reacción se agita durante 15 minutos a temperatura ambiente y después la fase orgánica se separa y se extrae la fase acuosa con cloroformo. La fase orgánica se seca con Na₂SO₄ y a continuación los volátiles se eliminan a vacío obteniéndose así los derivados deseados.

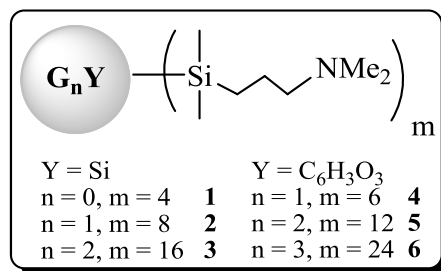
4.5.1.8 Método sintético 8: Adición de fluoresceína a aminas primarias y posterior cuaternización de los grupos –NMe₂

A una disolución del compuesto correspondiente con grupos –NH₂ terminales en EtOH/THF (3:2), se añaden 1.1 equivalentes de isotiocianato de fluoresceína (FITC, isómero I) con respecto al número de grupos amino primarios y se deja reaccionar durante 16 h bajo agitación. Transcurrido este tiempo se evaporan los volátiles y se redisuelve la mezcla de reacción en THF, filtrándola a un nuevo schlenck y añadiendo posteriormente un ligero exceso de MeI (1.05 equivalentes) con respecto al número de grupos –NMe₂ presentes en la molécula. La mezcla se mantiene agitando durante una noche. Al día siguiente se evaporan los volátiles, se lava la mezcla con EtOH y se nanofiltran en agua el producto resultante para eliminar la FITC en exceso. Estos compuestos se almacenan en atmósfera seca y en ausencia de luz al ser fotosensibles.

4.5.2 Síntesis y caracterización de los derivados dendríticos

4.5.2.1 Dendrimeros con grupos $-NMe_2$ sintetizados por hidrosililación (1-6)

Método sintético 1a.



$G_0Si(Si-NMe_2)_4$ (**1**)

Datos: $G_0Si(SiH)_4^5$ (0.56 g, 1.30 mmol), $C_3H_5NMe_2$ (1.2 ml, 10.50 mmol).

Aceite amarillo (0.90 g, 90 %).

RMN-¹H (CDCl₃): δ -0.08 (s, 24H, $SiMe_2$), 0.45 (m, 8H, $SiCH_2CH_2CH_2NMe_2$), 0.53 (m, 16 H, $SiCH_2CH_2CH_2Si$), 1.26 (m, 8H, $SiCH_2CH_2CH_2Si$), 1.42 (m, 8H, $SiCH_2CH_2CH_2NMe_2$), 2.19 (sa, 32H, $SiCH_2CH_2CH_2NMe_2$ y $SiCH_2CH_2CH_2NMe_2$, superpuestas). RMN-¹³C{¹H} (CDCl₃): δ -3.4 ($SiMe_2$), 12.8 ($SiCH_2CH_2CH_2NMe_2$), 17.5 ($SiCH_2CH_2CH_2Si$), 18.5 ($SiCH_2CH_2CH_2Si$), 20.2 ($SiCH_2CH_2CH_2Si$), 22.1 ($SiCH_2CH_2CH_2NMe_2$), 45.4 ($-NMe_2$), 63.4 ($SiCH_2CH_2CH_2NMe_2$). RMN-¹⁵N (CDCl₃): δ -351.5 ($SiCH_2CH_2CH_2NMe_2$). RMN-²⁹Si (CDCl₃): δ 0.5 (G_0-Si), 1.9 (G_0-SiMe_2). Masas: $[M+H]^+ = 773.64$ uma (calcd. = 772.65 uma). Anal. Calc. C₄₀H₉₆N₄Si₅ (773.74 g/mol): C, 62.10; H, 12.51; N, 7.24; Exp.: C, 62.50; H, 12.02; N, 6.87.

$G_1Si(Si-NMe_2)_8$ (**2**)

Datos: $G_1Si(SiH)_8^5$ (0.30 g, 0.25 mmol), $C_3H_5NMe_2$, (0.48 ml, 4.07 mmol). Aceite amarillo (0.40 g, 85 %).

RMN-¹H (CDCl₃): δ -0.11 (s, 12 H, $SiMe$), -0.07 (s, 48 H, $SiMe_2$), 0.46 (m, 16 H, $SiCH_2CH_2CH_2NMe_2$), 0.54 (m, 48 H, $SiCH_2CH_2CH_2Si$), 1.28 (m, 24 H, $SiCH_2CH_2CH_2Si$), 1.42 (m, 16 H, $SiCH_2CH_2CH_2NMe_2$), 2.19 (sa, 64 H, $SiCH_2CH_2CH_2NMe_2$ y $SiCH_2CH_2CH_2NMe_2$, superpuestas). RMN-¹³C{¹H} (CDCl₃): δ -5.0 ($SiCH_3$), -3.3 ($SiMe_2$), 12.9 ($SiCH_2CH_2CH_2NMe_2$), 17.7 – 21.1

(SiCH₂CH₂CH₂Si y SiCH₂CH₂CH₂Si), 22.0 (SiCH₂CH₂CH₂NMe₂), 45.4 (-NMe₂), 63.4 (SiCH₂CH₂CH₂NMe₂). RMN-¹⁵N (CDCl₃): δ -351.9 (SiCH₂CH₂CH₂NMe₂). RMN-²⁹Si (CDCl₃): δ (G₀-Si) no se observa, 1.0 (G₀-SiMe), 1.9 (G₁-SiMe₂). Masas: [M+H]⁺=1861.01 uma (calcd. = 1858.52 uma). Anal. Calc. C₉₆H₂₂₈N₈Si₁₃ (1860 g/mol): C, 61.99; H, 12.36; N, 6.02; Exp.: C, 62.43; H, 11.88; N, 5.86.

G₂Si(Si-NMe₂)₁₆ (3)

Datos: G₂Si(SiH)₁₆⁵ (0.26 g, 0.10 mmol), C₃H₅NMe₂, (0.40 ml, 3.40 mmol). Aceite amarillento (0.36 g, 90 %).

RMN-¹H (CDCl₃): δ -0.12 (s, 36 H, SiMe), -0.07 (s, 96 H, SiMe₂), 0.51 (m, 144 H, SiCH₂CH₂CH₂NMe₂ y SiCH₂CH₂CH₂Si-), 1.28 (m, 56 H, SiCH₂CH₂CH₂Si), 1.41 (m, 32 H, SiCH₂CH₂CH₂NMe₂), 2.18 (sa, 128 H, SiCH₂CH₂CH₂NMe₂ y SiCH₂CH₂CH₂NMe₂, superpuestas). RMN-¹³C{¹H} (CDCl₃): δ -4.9 (SiCH₃), -3.4 (SiMe₂), 12.9 (SiCH₂CH₂CH₂NMe₂), 17.7–20.1 (SiCH₂CH₂CH₂Si y SiCH₂CH₂CH₂Si), 22.1 (SiCH₂CH₂CH₂NMe₂), 45.4 (-NMe₂), 63.4 (SiCH₂CH₂CH₂NMe₂). RMN-¹⁵N (CDCl₃): δ -352.4 (SiCH₂CH₂CH₂NMe₂). RMN-²⁹Si (CDCl₃): δ (G₁-Si) y (G₂-SiMe) no se observan, 0.9 (G₃-SiMe), 1.9 (G₃-SiMe₂). Anal. Calc. C₂₀₈H₄₉₂N₁₆Si₂₉ (4032.72 g/mol): C, 61.95; H, 12.30; N, 5.56; Exp.: C, 61.52; H, 12.08; N, 5.11.

G₁O₃(Si-NMe₂)₆ (4)

Datos: G₁O₃(SiH)₆⁶ (0.62 g, 0.61 mmol), C₃H₅NMe₂, (0.87 ml, 72.8 mmol). Aceite amarillento (0.82 g, 87 %).

RMN-¹H (CDCl₃): δ -0.11 (s, 9 H, SiMe), -0.08 (s, 36 H, SiMe₂), 0.46 (m, 12 H, SiCH₂CH₂CH₂NMe₂), 0.52 (m, 30 H, SiCH₂CH₂CH₂Si y OCH₂CH₂CH₂CH₂Si), 1.27 (m, 18 H, SiCH₂CH₂CH₂Si y OCH₂CH₂CH₂CH₂Si), 1.40 (m, 12 H, SiCH₂CH₂CH₂N), 1.74 (m, 6 H, OCH₂CH₂CH₂CH₂Si), 2.19 (m, 48 H, SiCH₂CH₂CH₂NMe₂ y SiCH₂CH₂CH₂NMe₂), 3.85 (t, 6 H, OCH₂), 6.02 (s,

3 H, $C_6H_3O_3$). RMN- $^{13}C\{^1H\}$ ($CDCl_3$): δ -5.1 (SiCH₃), -3.3 (SiMe₂), 12.8 (SiCH₂CH₂CH₂NMe₂), 13.8 (OCH₂CH₂CH₂CH₂Si), 18.4–20.0 (SiCH₂CH₂CH₂Si), 20.5 (OCH₂CH₂CH₂CH₂Si), 22.0 (SiCH₂CH₂CH₂NMe₂), 33.2 (OCH₂CH₂CH₂CH₂Si), 45.4 (SiCH₂CH₂CH₂NMe₂), 63.3 (SiCH₂CH₂CH₂NMe₂), 67.6 (OCH₂), 93.7 ($C_6H_3O_3$; C-H), 160.9 ($C_6H_3O_3$; C-O). RMN- ^{15}N ($CDCl_3$): δ -351.5 (SiCH₂CH₂CH₂NMe₂). RMN- ^{29}Si ($CDCl_3$): δ 1.8 (G₁-SiMe), 2.1 (G₁-SiMe₂). Masas: [M+H]⁺ = 1538.21 uma (calcd. = 1538.20 uma). Anal. Calc. C₈₁H₁₈₀N₆O₃Si₉ (1537,20 g/mol): C, 63.21; H, 11.79; N, 5.46; Exp.: C, 62.80; H, 11.78; N, 5.06.

G₂O₃(Si-NMe₂)₁₂ (5)

Datos: G₂O₃(SiH)₁₂⁶ (0.31 g, 0.30 mmol), C₃H₅NMe₂, (0.87 ml, 72.8 mmol). Aceite amarillento viscoso (0.76 g, 80 %).

RMN- 1H ($CDCl_3$): δ -0.11 (s, 27 H, SiMe), -0.07 (s, 72 H, SiMe₂), 0.44 (m, 24 H, SiCH₂CH₂CH₂NMe₂), 0.54 (m, 78 H, SiCH₂CH₂CH₂Si y OCH₂CH₂CH₂CH₂Si), 1.28 (m, 42 H, SiCH₂CH₂CH₂Si y OCH₂CH₂CH₂CH₂Si), 1.41 (m, 24 H, SiCH₂CH₂CH₂N), 1.74 (m, 6 H, OCH₂CH₂CH₂CH₂Si), 2.20 (m, 96 H, SiCH₂CH₂CH₂NMe₂ y SiCH₂CH₂CH₂NMe₂), 3.74 (t, 6 H, OCH₂), 6.03 (s, 3 H, $C_6H_3O_3$). RMN- $^{13}C\{^1H\}$ ($CDCl_3$): δ -5.2 y -5.0 (SiCH₃), -3.4 (SiMe₂), 12.8 (SiCH₂CH₂CH₂NMe₂), 13.8 (OCH₂CH₂CH₂CH₂Si), 18.0–20.0 (SiCH₂CH₂CH₂Si), 20.5 (OCH₂CH₂CH₂CH₂Si), 22.0 (SiCH₂CH₂CH₂NMe₂), 33.2 (OCH₂CH₂CH₂CH₂Si), 45.4 (SiCH₂CH₂CH₂NMe₂), 63.3 (SiCH₂CH₂CH₂NMe₂), 67.6 (OCH₂), 93.7 ($C_6H_3O_3$; C-H), 160.9 ($C_6H_3O_3$; C-O). RMN- ^{15}N ($CDCl_3$): δ -352.0 (SiCH₂CH₂CH₂NMe₂). RMN- ^{29}Si ($CDCl_3$): δ 1.7 (G₁-SiMe), 0.9 (G₂-SiMe), 1.9 (G₂-SiMe₂). Masas: [M+H]⁺ = 3165.50 uma (calcd. = 3165.50 uma). Anal. Calc. C₁₆₅H₃₇₈N₁₂O₃Si₂₁ (3164.49 g/mol): C, 62.54; H, 12.02; N, 5.30; Exp.: C, 62.07; H, 11.60; N, 4.88.

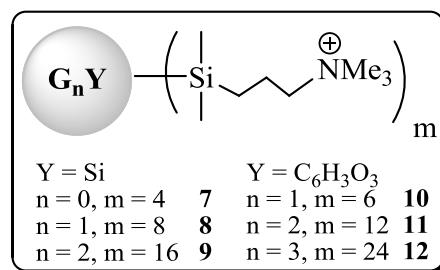
G₃O₃(Si-NMe₂)₂₄ (6)

Datos: G₃O₃(SiH)₂₄⁶ (0.58 g, 0.13 mmol), C₃H₅NMe₂, (0.73 ml, 6.2 mmol). Aceite viscoso amarillento (0.68 g, 82 %).

RMN-¹H (CDCl₃): δ -0.11 (s, 63 H, SiMe), -0.07 (s, 144 H, SiMe₂), 0.55 (m, 48 H, SiCH₂CH₂CH₂NMe₂), 0.55 (m, 174 H, SiCH₂CH₂CH₂Si y OCH₂CH₂CH₂CH₂Si), 1.28 (m, 90 H, SiCH₂CH₂CH₂Si y OCH₂CH₂CH₂CH₂Si), 1.42 (m, 48 H, SiCH₂CH₂CH₂N), 1.74 (m, 6 H, OCH₂CH₂CH₂CH₂Si), 2.20 (m, 192 H, SiCH₂CH₂CH₂NMe₂ y SiCH₂CH₂CH₂NMe₂), 3.84 (t, 6 H, OCH₂), 6.01 (s, 3 H, C₆H₃O₃). RMN-¹³C{¹H} (CDCl₃): δ -4.9 (SiCH₃), -3.2 (SiMe₂), 12.9 (SiCH₂CH₂CH₂NMe₂), 14.1 (OCH₂CH₂CH₂CH₂Si), 17.9–20.1 (SiCH₂CH₂CH₂Si), 20.6 (OCH₂CH₂CH₂CH₂Si), 22.1 (SiCH₂CH₂CH₂NMe₂), 33.5 (OCH₂CH₂CH₂CH₂Si), 45.4 (SiCH₂CH₂CH₂NMe₂), 63.4 (SiCH₂CH₂CH₂NMe₂), 67.8 (OCH₂), 93.7 (C₆H₃O₃; C-H), 161.0 (C₆H₃O₃; C-O). RMN-¹⁵N (CDCl₃): δ -352.4 (SiCH₂CH₂CH₂NMe₂). RMN-²⁹Si (CDCl₃): δ 0.9 (G₃-SiMe), 1.9 (G₃-SiMe₂). Anal. Calc. C₃₃₃H₇₇₄N₂₄O₃Si₄₅ (6419.08 g/mol): C, 62.22; H, 11.69; N, 5.23; Exp.: C, 61.78; H, 12.05; N, 4.95.

4.5.2.2 Dendrímeros con grupos -NMe₃⁺ sintetizados por hidrosililación (7-12)

Método sintético 4.

**G₀Si(Si-NMe₃⁺I)₄ (7)**

Datos: **1** (0.29 g, 0.40 mmol) y MeI (0.19 ml, 3.04 mmol). Sólido blanco y pulverulento (0.50 g, 100 %).

RMN-¹H (DMSO-d₆): δ -0.01 (s, 24 H, SiMe₂), 0.37 (m, 8 H, SiCH₂CH₂CH₂N⁺), 0.58 (m, 8 H, SiCH₂CH₂CH₂Si), 1.31 (m, 8 H, SiCH₂CH₂CH₂Si), 1.62 (m, 8 H, SiCH₂CH₂CH₂NMe₃⁺), 3.04 (s, 36 H, -NMe₃⁺), 3.24 (m, 8 H, -CH₂N⁺). RMN-¹³C{¹H} (DMSO-d₆): δ -3.9 (SiMe₂), 10.7 (SiCH₂CH₂CH₂N⁺), 16.4, 17.4 y 17.6 (SiCH₂CH₂CH₂Si), 18.8

(SiCH₂CH₂CH₂N⁺), 51.6 (-NMe₃⁺), 67.4 (SiCH₂CH₂CH₂N⁺). RMN-¹⁵N (DMSO-d₆): δ -321.5 (-NMe₃⁺). RMN-²⁹Si (DMSO-d₆): δ 0.7 (G₁-Si), 2.4 (G₁-SiMe₂). Masas: [M-I]⁺ = 1214.49 uma (calcd. = 1213.45 uma). Anal. Calc. C₄₄H₁₀₈I₄N₄Si₅ (1341.4 g/mol): C, 39.40; H, 8.12; N, 4.61; Exp.: C, 39.52; H, 8.54; N, 4.61.

G₁Si(Si-NMe₃⁺I)₈ (8)

Datos: **2** (0.14 g, 0.08 mmol) y MeI (0.08 ml, 1.28 mmol). Sólido blanco (0.21 g, 95 %).

RMN-¹H (DMSO-d₆): δ -0.10 (s, 12 H, SiMe), -0.08 (s, 48 H, SiMe₂), 0.37 (m, 16 H, SiCH₂CH₂CH₂NMe₃⁺), 0.54 (m, 48 H, SiCH₂CH₂CH₂Si), 1.30 (m, 24 H, SiCH₂CH₂CH₂Si), 1.61 (m, 16 H, SiCH₂CH₂CH₂NMe₃⁺), 3.04 (s, 72 H, NMe₃⁺), 3.25 (m, 16 H, CH₂NMe₃⁺). RMN-¹³C{¹H} (DMSO-d₆): δ -5.4 (SiCH₃), -3.9 (SiMe₂), 10.6 (SiCH₂CH₂CH₂NMe₃⁺), 16.4–17.9 (SiCH₂CH₂CH₂Si y SiCH₂CH₂CH₂Si), 18.8 (SiCH₂CH₂CH₂NMe₃⁺), 51.6 (Si-NMe₃⁺), 67.4 (SiCH₂CH₂CH₂NMe₃⁺). RMN-¹⁵N (DMSO-d₆): δ -322.4 (-NMe₃⁺). RMN-²⁹Si (DMSO-d₆): δ (G₁-Si) no se observa, 1.1 (G₁-SiMe), 2.3 (G₂-SiMe₂). ESI: q=2 (1370.6; [M-2I]²⁺), q=3 (871.4; [M-3I]³⁺) y q=4 (621.8; [M-4I]⁴⁺). Anal. Calc. C₁₀₄H₂₅₂I₈N₈Si₁₃ (2995.51 g/mol): C, 41.70; H, 8.48; N, 3.74; Exp.: C, 42.19; H, 8.96; N, 3.25.

G₂Si(Si-NMe₃⁺I)₁₆ (9)

Datos: **3** (0.13 g, 0.03 mmol) y MeI (0.06 ml, 0.96 mmol). Sólido blanco (0.18 g, 95 %).

RMN-¹H (DMSO-d₆): δ -0.10 (s, 36 H, SiMe), -0.08 (s, 96 H, SiMe₂), 0.37 (m, 144 H, SiCH₂CH₂CH₂NMe₃⁺), 0.54 (m, 56 H, SiCH₂CH₂CH₂Si), 1.30 (m, 32 H, SiCH₂CH₂CH₂Si), 1.62 (m, 144 H, SiCH₂CH₂CH₂NMe₃⁺), 3.08 (s, 32 H, NMe₃⁺), 3.28 (m, 32 H, -CH₂NMe₃⁺). RMN-¹³C{¹H} (DMSO-d₆): δ -5.4 (SiCH₃), -3.9 (SiMe₂), 10.6 (SiCH₂CH₂CH₂NMe₃⁺), 14.6–17.9 (SiCH₂CH₂CH₂Si y SiCH₂CH₂CH₂Si), 18.8 (SiCH₂CH₂CH₂NMe₃⁺), 51.7 (-NMe₃⁺), 67.3

(SiCH₂CH₂CH₂NMe₃⁺). RMN-¹⁵N (DMSO-d₆): δ -321.6 (-NMe₃⁺). RMN-²⁹Si (DMSO-d₆): δ (G₀-Si) y (G₁-Si) no se observan, 1.1 (G₂-Si), 2.3 (G₃-Si). ESI: q=5 (1132.7; [M-5I]⁵⁺), y q=6 (922.8; [M-6I]⁶⁺). Anal. Calc. C₂₂₄H₅₄₀I₁₆N₁₆Si₂₉ (6303.74 g/mol): C, 42.68; H, 8.63; N, 3.56; Exp.: C, 43.14; H, 9.10; N, 3.39.

G₁O₃(Si-NMe₃⁺I)₆ (10)

Datos: **4** (0.40 g, 0.26 mmol) y MeI (0.20 ml, 3.20 mmol). Sólido blanco (0.50 g, 95 %).

RMN-¹H (DMSO-d₆): δ -0.10 (s, 9 H, SiMe), -0.08 (s, 36 H, SiMe₂), 0.38 (m, 12 H, SiCH₂CH₂CH₂NMe₃⁺), 0.56 (m, 30 H, SiCH₂CH₂CH₂Si y OCH₂CH₂CH₂CH₂Si), 1.30 (m, 18 H, SiCH₂CH₂CH₂Si y OCH₂CH₂CH₂CH₂Si), 1.63 (m, 12 H, SiCH₂CH₂CH₂NMe₃⁺), 1.65 (m, 6 H, OCH₂CH₂CH₂CH₂Si), 3.05 (m, 36 H, -NMe₃⁺), 3.25 (m, 12 H, -CH₂NMe₃⁺), 3.87 (t, 6 H, -OCH₂), 6.00 (s, 3 H, C₆H₃O₃). RMN-¹³C{¹H} (DMSO-d₆): δ -5.5 (SiCH₃), -3.9 (SiMe₂), 10.6 (SiCH₂CH₂CH₂NMe₃⁺), 12.7 (OCH₂CH₂CH₂CH₂Si), 16.4–18.6 (SiCH₂CH₂CH₂Si), 18.7 (OCH₂CH₂CH₂CH₂Si), 19.5 (SiCH₂CH₂CH₂NMe₃⁺), 32.0 (OCH₂CH₂CH₂CH₂Si), 51.6 (-NMe₃⁺), 66.6 (OCH₂), 67.4 (SiCH₂CH₂CH₂NMe₃⁺), 93.1 (C₆H₃O₃; C-H), 160.0 (C₆H₃O₃; C-O). RMN-¹⁵N (DMSO-d₆): δ -321.8 (-NMe₃⁺). RMN-²⁹Si (DMSO-d₆): δ 1.8 (G₁-SiMe), 2.5 (G₁-SiMe₂). Masas: [M-I]⁺ = 2261.81 uma (calcd. = 2261,87 uma). Anal. Calc. C₃₇H₁₉₈I₆N₆O₃Si₉ (2390,74 g/mol): C, 43.71; H, 8.35; N, 3.52; Exp.: C, 42.22; H, 8.30; N, 3.89.

G₂O₃(Si-NMe₃⁺I)₁₂ (11)

5 (0.40 g, 0.13 mmol) y MeI (0.30 ml, 4.80 mmol). Sólido blanco (0.60 g, 95 %).

RMN-¹H (DMSO-d₆): δ -0.10 (s, 27 H, SiMe), -0.08 (s, 72 H, SiMe₂), 0.38 (m, 24 H, SiCH₂CH₂CH₂NMe₃⁺), 0.54 (m, 78 H, SiCH₂CH₂CH₂Si y OCH₂CH₂CH₂CH₂Si), 1.30 (m, 42 H, SiCH₂CH₂CH₂Si y OCH₂CH₂CH₂CH₂Si), 1.62 (m, 24 H, SiCH₂CH₂CH₂NMe₃⁺), 1.64 (m, 6 H, OCH₂CH₂CH₂CH₂Si), 3.05

(m, 72 H, $-NMe_3^+$), 3.27 (m, 24 H, $-CH_2NMe_3^+$) 3.87 (t, 6 H, OCH_2), 5.99 (s, 3 H, $C_6H_3O_3$). RMN- $^{13}C\{^1H\}$ (DMSO- d_6): δ -5.4 (SiCH₃), -3.9 (SiMe₂), 10.6 (SiCH₂CH₂CH₂NMe₃⁺), 12.8 (OCH₂CH₂CH₂CH₂Si), 16.5–17.7 (SiCH₂CH₂CH₂Si), 18.8 (OCH₂CH₂CH₂CH₂Si), 19.5 (SiCH₂CH₂CH₂NMe₃⁺), 32.1 (OCH₂CH₂CH₂CH₂Si), 51.6 ($-NMe_3^+$), 66.6 (OCH₂), 67.4 (SiCH₂CH₂CH₂NMe₃⁺), 93.1 ($C_6H_3O_3$; C-H), 160.0 ($C_6H_3O_3$; C-O). RMN- ^{15}N (DMSO- d_6): δ -321.9 ($-NMe_3^+$). RMN- ^{29}Si (DMSO- d_6): δ 1.7 (G₁-SiMe), 0.9 (G₂-SiMe), 2.3 (G₂-SiMe₂). ESI: q=4 (1090.24 [M-4I]⁴⁺), q=5 (846.81 [M-5I]⁵⁺), q=6 (684.56 [M-6I]⁶⁺), y q=7 (568.56 [M-7I]⁷⁺). Anal. Calc. C₁₇₇H₄₁₄I₁₂N₁₂O₃Si₂₁ (4871,91 g/mol): C, 43.64; H, 8.57; N, 3.45; Exp.: C, 44.08; H, 7.10; N, 2.93.

G₃O₃(Si-NMe₃⁺I)₂₄ (12)

Datos: **6** (0.30 g, 0.05 mmol) y MeI (0.15 ml, 2.40 mmol). Sólido blanco (0.47 g, 95 %).

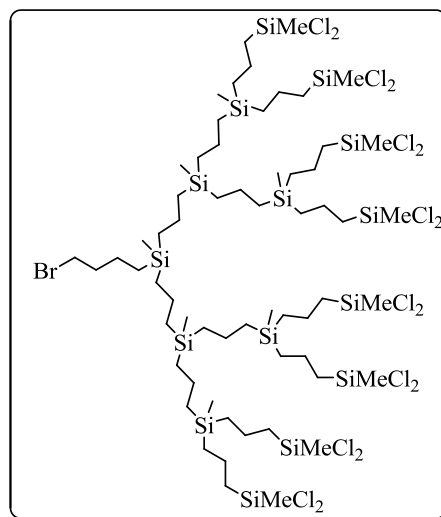
RMN- 1H (DMSO- d_6): δ -0.10 (s, 63 H, SiMe), -0.08 (s, 144 H, SiMe₂), 0.38 (m, 48 H, SiCH₂CH₂CH₂NMe₃⁺), 0.54 (m, 174 H, SiCH₂CH₂CH₂Si y OCH₂CH₂CH₂CH₂Si), 1.30 (m, 90 H, SiCH₂CH₂CH₂Si y OCH₂CH₂CH₂CH₂Si), 1.62 (m, 48 H, SiCH₂CH₂CH₂NMe₃⁺), 1.64 (m, 6 H, OCH₂CH₂CH₂CH₂Si), 3.05 (m, 144 H, $-NMe_3^+$), 3.27 (m, 48 H, $-CH_2NMe_3^+$) 3.87 (t, 6 H, OCH_2), 5.99 (s, 3 H, $C_6H_3O_3$). RMN- $^{13}C\{^1H\}$ (DMSO- d_6): δ -5.4 (SiCH₃), -3.9 (SiMe₂), 10.6 (SiCH₂CH₂CH₂NMe₃⁺), 12.8 (OCH₂CH₂CH₂CH₂Si), 16.5–17.7 (SiCH₂CH₂CH₂Si), 18.8 (OCH₂CH₂CH₂CH₂Si), 19.5 (SiCH₂CH₂CH₂NMe₃⁺), 32.1 (OCH₂CH₂CH₂CH₂Si), 51.6 ($-NMe_3^+$), 67.4 (OCH₂), 66.6 (SiCH₂CH₂CH₂NMe₃⁺), 93.1 ($C_6H_3O_3$; C-H), 160.0 ($C_6H_3O_3$; C-O). RMN- ^{15}N (DMSO- d_6): δ -321.8 ($-NMe_3^+$). RMN- ^{29}Si (DMSO- d_6): δ 0.9 (G₃-SiMe), 2.4 (G₃-SiMe₂). Anal. Calc. C₃₅₇H₈₄₆I₂₄N₂₄O₃Si₄₅ (9834,25 g/mol): C, 43.60; H, 8.67; N, 3.42; Exp.: C, 44.10; H, 8.35; N, 3.47.

4.5.2.3 Cuña dendrítica de cuarta generación con grupos $-\text{SiMeCl}_2$ terminales (13)

Método sintético 1b.

Datos: BrG_3A_8 (2.53 g, 2.48 mmol) y $\text{HSiMe}_2\text{Cl}_2$ (4.1 ml, 39.38 mmol). Líquido transparente (4.57 g, 95 %).

RMN- ^1H (CDCl_3): δ -0.09, -0.07 y -0.04 (s, 21 H, SiMe), 0.59 (m, 42 H, SiCH_2), 0.75 (s, 24 H, SiMeCl_2), 1.16 (m, 16 H, CH_2SiCl_2), 1.30 (m, 16 H, $\text{CH}_2\text{-CH}_2\text{SiCl}_2$), 1.52 (m, 14 H, $\text{SiCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{Si}$), 1.85 (m, 2 H, BrCH_2CH_2), 3.4 (t, $J = 6.6$ Hz, 2 H, BrCH_2). RMN- $^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ (CDCl_3): δ -5.1 y -5.0 (SiCH_3), 5.5 (SiMeCl_2), 12.9 ($\text{BrCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{Si}$), 17.3–18.9 ($\text{SiCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{Si}$), 22.5 ($\text{BrCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{Si}$), 25.9 (CH_2SiCl_2), 33.7 (BrCH_2), 36.4 (BrCH_2CH_2).

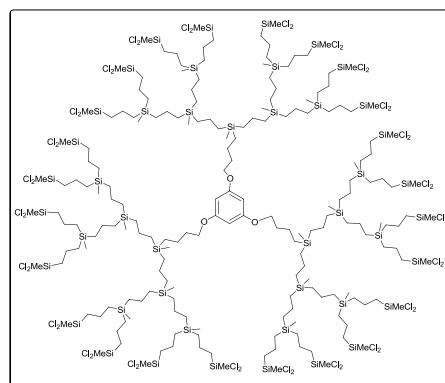


4.5.2.4 Dendrímero de cuarta generación con grupos $-\text{SiMeCl}_2$ terminales (14)

Método sintético 1b.

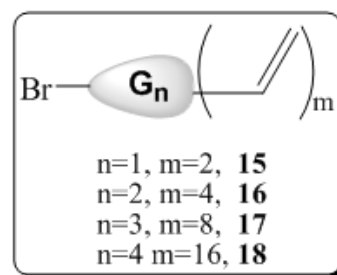
Datos: $\text{G}_3\text{O}_3\text{A}_{24}$ (0.355 g, 0.12 mmol) y HSiMeCl_2 (0.75 ml, 7.24 mmol). Aceite amarillento viscoso (0.635 g, 100 %).

RMN- ^1H (CDCl_3): δ -0.07 y -0.04 (s, 63 H, MeSi), 0.58 (m, 174 H, SiCH_2), 0.75 (s, 72 H, MeSiCl_2), 1.16 (m, 48 H, CH_2SiCl_2), 1.52 (m, 96 H, $\text{SiCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{Si}$), 3.84 (m, 6 H, OCH_2), 5.98 (s, 3 H, C_6H_3 , C-H). RMN- $^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ (CDCl_3): δ -5.1 (MeSi), 5.5 (MeSiCl_2), 17.3 – 18.9 ($\text{SiCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{Si}$), 25.9 (CH_2SiCl_2).



4.5.2.5 Cuñas dendríticas con bromo en el punto focal y grupos vinilo terminales (15-18)

Método sintético 2.



BrG₁V₂ (15)

Datos: BrG₁(SiCl₂) (5.55 g, 22.20 mmol) y ClMg(C₂H₃) (33.3 ml, 53.28 mmol). Aceite viscoso (4.66 g, 90 %).

RMN-¹H (CDCl₃): δ 0.13 (s, 3 H, SiMeC₂H₃), 0.63 (m, 2 H, CH₂SiC₂H₃), 1.46 (m, 2 H, BrCH₂CH₂CH₂CH₂Si), 1.85 (m, 2 H, BrCH₂CH₂CH₂CH₂Si), 3.39 (t, J = 6.6 Hz, 2 H, BrCH₂CH₂CH₂CH₂Si), 5.71 (m, 2 H, SiCHCH₂), 6.03 (m, 4 H, SiCHCH₂); RMN-¹³C{¹H} (CDCl₃): δ -5.4 (SiMe), 13.1 (BrCH₂CH₂CH₂CH₂Si), 22.3 (BrCH₂CH₂CH₂CH₂Si), 33.6 (BrCH₂CH₂CH₂CH₂Si), 36.2 (BrCH₂CH₂CH₂CH₂Si), 133.1 (SiCHCH₂), 136.6 (SiCHCH₂). RMN-²⁹Si (CDCl₃): δ -13.5 (SiCHCH₂). Anal. Calcd. C₉H₁₇BrSi (233.22 g/mol): C, 46.35; H, 7.35; Obt.: C, 46.83; H, 7.65.

BrG₂V₄ (16)

Datos: BrG₂(SiCl₂)₂ (3.22 g, 6.54 mmol) y ClMg(C₂H₃) (19.62 mL, 31.40 mmol). Aceite viscoso (2.39 g, 80 %).

RMN-¹H (CDCl₃): δ -0.09 (s, 3 H, SiMe), 0.11 (s, 6 H, SiMeC₂H₃), 0.44 (m, 2 H, BrCH₂CH₂CH₂CH₂Si), 0.55 (m, 4 H, SiCH₂CH₂CH₂Si), 0.69 (m, 4 H, CH₂SiC₂H₃), 1.32 (m, 6 H, BrCH₂CH₂CH₂CH₂Si y SiCH₂CH₂CH₂Si), 1.85 (m, 2 H, BrCH₂CH₂CH₂CH₂Si), 3.38 (t, J = 6.6 Hz, 2 H, BrCH₂CH₂CH₂CH₂Si), 5.68 (m, 4 H, SiCHCH₂), 6.08 (m, 8 H, SiCHCH₂). RMN-¹³C{¹H} (CDCl₃): δ -5.2 y -5.1 (SiCH₃), 12.9 (BrCH₂CH₂CH₂CH₂Si), 18.3–18.7 (SiCH₂CH₂CH₂Si), 22.5 (BrCH₂CH₂CH₂CH₂Si), 33.6 (BrCH₂CH₂CH₂CH₂Si), 36.4 (BrCH₂CH₂CH₂CH₂Si), 132.6 (SiCHCH₂), 137.1 (SiCHCH₂). RMN-²⁹Si (CDCl₃): δ 1.9 (G₁-SiMe), -13.5 (SiCHCH₂). Anal. Calcd. C₂₁H₄₁BrSi₃ (456.17 g/mol): C, 55.01; H, 8.86; Exp.: C, 55.11; H, 9.03.

BrG₃V₈ (17)

Datos: BrG₃(SiCl₂)₄ (11.02 g, 11.32 mmol) y ClMg(C₂H₃). Aceite viscoso (9.92 g, 97 %).

RMN-¹H (CDCl₃): δ -0.11 and -0.08 (s, 9 H, SiMe), 0.11 (s, 12 H, SiMeC₂H₃), 0.53 (m, 2 H, BrCH₂CH₂CH₂CH₂Si), 0.53 (m, 16 H, SiCH₂CH₂CH₂Si), 0.69 (m, 8 H, CH₂SiC₂H₃), 1.33 (m, 14 H, BrCH₂CH₂CH₂CH₂Si y SiCH₂CH₂CH₂Si), 1.85 (m, 2 H, BrCH₂CH₂CH₂CH₂Si), 3.38 (t, J = 6.6 Hz, 2 H, BrCH₂CH₂CH₂CH₂Si), 5.68 (m, 8 H, SiCHCH₂), 6.08 (m, 16 H, SiCHCH₂). RMN-¹³C{¹H} (CDCl₃): δ -5.2 - -4.9 (SiCH₃), 13.0 (BrCH₂CH₂CH₂CH₂Si), 18.3–19.0 (SiCH₂CH₂CH₂Si), 22.5 (BrCH₂CH₂CH₂CH₂Si), 33.6 (BrCH₂CH₂CH₂CH₂Si), 36.4 (BrCH₂CH₂CH₂CH₂Si), 132.6 (SiCHCH₂), 137.1 (SiCHCH₂). RMN-²⁹Si (CDCl₃): δ 1.9 (G₁-SiMe) 1.0 (G₂-SiMe), -13.5 (SiCHCH₂). Anal. Calcd. C₄₅H₈₉BrSi₇ (906.69 g/mol): C, 59.58; H, 9.47; Exp.: C, 59.61; H, 9.89.

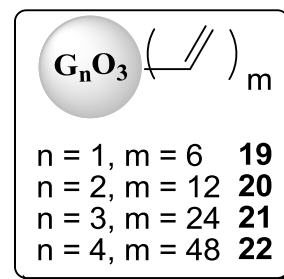
BrG₄V₁₆ (18)

Datos: BrG₄(SiCl₂)₈ (4.57 g, 2.35 mmol) y ClMg(C₂H₃) (28.2 mL, 45.12 mmol). Aceite viscoso (3.90 g, 92 %).

RMN-¹H (CDCl₃): δ -0.10 (s, 21 H, SiMe), 0.12 (s, 24 H, SiMeC₂H₃), 0.53 (m, 2H, BrCH₂CH₂CH₂CH₂Si), 0.53 (m, 40 H, SiCH₂CH₂CH₂Si), 0.70 (m, 16 H, CH₂SiC₂H₃), 1.32 (m, 30 H, BrCH₂CH₂CH₂CH₂Si y SiCH₂CH₂CH₂Si), 1.85 (m, 2 H, BrCH₂CH₂CH₂CH₂Si), 3.38 (t, J = 6.6 Hz, 2 H, BrCH₂CH₂CH₂CH₂Si), 5.69 (m, 16 H, SiCHCH₂), 6.05 (m, 32 H, SiCHCH₂). RMN-¹³C{¹H} (CDCl₃): δ -5.2 - -5.0 (SiCH₃), 13.0 (BrCH₂CH₂CH₂CH₂Si), 18.3–19.0 (SiCH₂CH₂CH₂Si), 22.5 (BrCH₂CH₂CH₂CH₂Si), 33.5 (BrCH₂CH₂CH₂CH₂Si), 36.4 (BrCH₂CH₂CH₂CH₂Si), 132.6 (SiCHCH₂), 137.1 (SiCHCH₂). RMN-²⁹Si (CDCl₃): δ 1.9 (G₂-SiMe) 1.0 (G₃-SiMe), -13.5 (SiCHCH₂). Anal. Calc. C₉₃H₁₈₅BrSi₁₅ (1804.65 g/mol): C, 61.90; H, 10.33; Exp.: C, 62.22; H, 10.79.

4.5.2.6 Dendrímeros con grupos vinilo terminales (19-22)

Método sintético 5.



G₁O₃V₆ (19)

Datos: **15** (2.00 g, 8.57 mmol), K₂CO₃ (2.37 g, 17.15 mmol), éter corona 18-corona-6 (0.23 g, 0.86 mmol) y 1,3,5-(HO)₃C₆H₃ (0.36 g, 2.86 mmol). Aceite viscoso (1.50 g, 90 %). El tiempo de reacción es de 3 días para este derivado dendrítico.

RMN-¹H (CDCl₃): δ 0.13 (s, 9 H, SiMeC₂H₃), 0.69 (m, 6 H, CH₂SiC₂H₃), 1.47 (m, 6 H, OCH₂CH₂CH₂CH₂Si), 1.76 (m, 6 H, OCH₂CH₂CH₂CH₂Si), 3.88 (t, J = 6.6 Hz, 6 H, OCH₂CH₂CH₂CH₂Si), 5.70 y 6.07 (m, 21 H, SiCHCH₂ y C₆H₃O₃). RMN-¹³C{¹H} (CDCl₃): δ -7.1 (SiCH₃), 13.7 (OCH₂CH₂CH₂CH₂Si), 20.3 (OCH₂CH₂CH₂CH₂Si), 29.2 (OCH₂CH₂CH₂CH₂Si), 67.5 (OCH₂CH₂CH₂CH₂Si), 93.7 (C₆H₃O₃; C-H), 132.9 (SiCHCH₂), 136.8 (SiCHCH₂), 160.9 (C₆H₃O₃; C-O). RMN-²⁹Si (CDCl₃): δ -13.5 (SiCHCH₂). Anal. Calc. C₃₃H₅₄O₃Si₃ (583.04 g/mol): C, 67.98; H, 9.34; Exp.: C, 67.24; H, 9.40. MALDI: [M+H]⁺ = 583.35 uma (calcd. = 583.35 uma).

G₂O₃V₁₂ (20)

Datos: **16** (1.25 g, 2.73 mmol), K₂CO₃ (2.26 g, 16.38 mmol), éter corona 18-corona-6 (0.22 g, 0.59 mmol) y 1,3,5-(HO)₃C₆H₃ (0.11 g, 0.87 mmol). Aceite viscoso (1.03 g, 90 %). El tiempo de reacción es de 7 días para este derivado dendrítico.

RMN-¹H (CDCl₃): δ -0.09 (s, 9 H, SiMe), 0.13 (s, 18 H, SiMeC₂H₃), 0.52 (m, 18 H, OCH₂CH₂CH₂CH₂Si y SiCH₂CH₂CH₂Si), 0.69 (m, 12 H, CH₂SiC₂H₃), 1.46 (m, 18 H, OCH₂CH₂CH₂CH₂Si y SiCH₂CH₂CH₂Si), 1.76 (m, 6 H, OCH₂CH₂CH₂CH₂Si), 3.88 (t, J = 6.6 Hz, 6 H, OCH₂CH₂CH₂CH₂Si), 5.70 y 6.06 (m, 39 H, SiCHCH₂ y C₆H₃O₃). RMN-¹³C{¹H} (CDCl₃): δ -5.2 y -5.1

(SiCH₃), 13.8 (OCH₂CH₂CH₂CH₂Si), 18.3–18.7 (SiCH₂CH₂CH₂Si), 20.5 (OCH₂CH₂CH₂CH₂Si), 33.2 (OCH₂CH₂CH₂CH₂Si), 67.6 (OCH₂CH₂CH₂CH₂Si), 93.6 (C₆H₃O₃; C-H), 132.6 (SiCHCH₂), 137.2 (SiCHCH₂), 160.9 (C₆H₃O₃; C-O). RMN-²⁹Si (CDCl₃): δ 1.8 (G₁-Si), -13.4 (G₂-SiCHCH₂). Anal. Calc. C₆₉H₁₂₆O₃Si₉ (1256.51 g/mol): C, 65.69; H, 10.21; Exp.: C, 65.12; H, 9.64. MALDI: [M+H]⁺ = 1255.80 uma (calcd. = 1255.77 uma).

G₃O₃V₂₄ (21)

Datos: **17** (2.31 g, 2.55 mmol), K₂CO₃ (2.11 g, 15.28 mmol), éter corona 18-corona-6 (0.20 g, 0.76 mmol) y 1,3,5-(HO)₃C₆H₃ (0.10 g, 0.85 mmol). Aceite viscoso (1.84 g, 85 %). El tiempo de reacción es de 20 días para este derivado dendrítico.

RMN-¹H (CDCl₃): δ -0.12 y -0.09 (s, 24 H, SiMe), 0.10 (s, 36 H, SiMeC₂H₃), 0.52 (m, 54 H, OCH₂CH₂CH₂CH₂Si y SiCH₂CH₂CH₂Si), 0.68 (m, 24 H, CH₂SiC₂H₃), 1.33 (m, 42 H, OCH₂CH₂CH₂CH₂Si y SiCH₂CH₂CH₂Si), 1.75 (m, 6 H, OCH₂CH₂CH₂CH₂Si), 3.88 (t, J = 6.6 Hz, 6 H, OCH₂CH₂CH₂CH₂Si), 5.67 y 6.05 (m, 75 H, SiCHCH₂ and C₆H₃O₃). RMN-¹³C{¹H} (CDCl₃): δ -5.2 - -5.0 (SiCH₃), 13.9 (OCH₂CH₂CH₂CH₂Si), 17.7–18.9 (SiCH₂CH₂CH₂Si), 20.5 (OCH₂CH₂CH₂CH₂Si), 33.3 (OCH₂CH₂CH₂CH₂Si), 67.7 (OCH₂CH₂CH₂CH₂Si), 93.6 (C₆H₃O₃; C-H), 132.6 (SiCHCH₂), 137.2 (SiCHCH₂), 160.9 (C₆H₃O₃; C-O). RMN-²⁹Si (CDCl₃): δ 1.6 (G₁-Si), 1.0 (G₂-Si), -13.3 (G₃-SiCHCH₂). Anal. Calc. C₁₄₇H₂₇₀O₃Si₂₁ (2603.45 g/mol): C, 65.05; H, 10.45; Exp.: C, 63.52; H, 9.93. MALDI: [M+H]⁺ = 2600.60 uma (calcd. = 2600.62 uma).

G₄O₃V₄₈ (22)

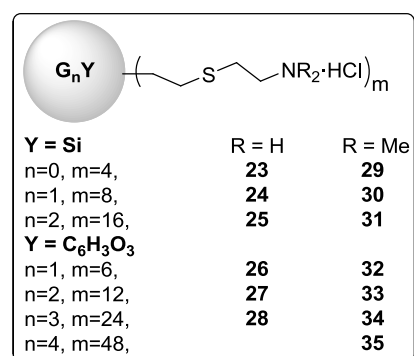
Método sintético 2. Datos: G₄O₃(SiCl₂)₂₄ (0.635 g, 0.12 mmol) y ClMgC₂H₃ (4.35 ml, 6.96 mmol). Aceite viscoso (0.533 g, 84 %).

RMN-¹H (CDCl₃): δ -0.10 (s, 63 H, SiMe), 0.12 (s, 72 H, SiMeC₂H₃), 0.53 (m, 126 H, OCH₂CH₂CH₂CH₂Si y SiCH₂CH₂CH₂Si), 0.68 (m, 48 H,

$CH_2SiC_2H_3$), 1.32 (m, 60 H, $OCH_2CH_2CH_2CH_2Si$ y $SiCH_2CH_2CH_2Si$), 1.75 (m, 6 H, $OCH_2CH_2CH_2CH_2Si$), 3.88 (t, $J = 6.6$ Hz, 6 H, $OCH_2CH_2CH_2CH_2Si$), 5.67 (m, 48 H, $SiCHCH_2$), 6.05 (m, 99 H, $SiCHCH_2$ y $C_6H_3O_3$). RMN- $^{13}C\{^1H\}$ ($CDCl_3$): δ -5.2 - -4.9 ($SiCH_3$), 13.8 ($OCH_2CH_2CH_2CH_2Si$), 18.3–19.0 ($SiCH_2CH_2CH_2Si$), 20.5 ($OCH_2CH_2CH_2CH_2Si$), 33.2 ($OCH_2CH_2CH_2CH_2Si$), 67.6 ($OCH_2CH_2CH_2CH_2Si$), 93.7 ($C_6H_3O_3$; C-H), 132.6 ($SiCHCH_2$), 137.1 ($SiCHCH_2$), 160.9 ($C_6H_3O_3$; C-O). RMN- ^{29}Si ($CDCl_3$): δ 1.6 (G_1-Si), 1.0 (G_2-Si y G_3-Si), -13.3 ($G_4-SiCHCH_2$). Anal. Calc. $C_{285}H_{558}O_3Si_{45}$ (2603.45 g/mol): C, 64.62; H, 10.62; Exp.: C, 64.29; H, 10.11.

4.5.2.7 Dendrímeros con grupos $-NR_2H^+$ terminales obtenidos por hidrotiolación (23-35)

Método sintético 6a.



$G_0Si(S-NH_2\cdot HCl)_4$ (23)

Este compuesto se sintetizó tal y como está descrito en la bibliografía.⁷

$G_1Si(S-NH_2\cdot HCl)_8$ (24)

Datos: G_1SiV_8 ⁸ (0.925 g, 1.59 mmol), hidrocloreto de cisteamina (1.442 g, 12.72 mmol) y DMPA (0.328 g, 1.28 mmol). Sólido blanco (1.564 g, 66 %).

RMN- 1H ($DMSO-d_6$): δ 0.54 (m, 8 H, $SiCH_2$), 0.62 (m, 8 H, $CH_2SiC_2H_4S$, superpuestas) 0.85 (t, $J = 8.5$ Hz, 8 H, $SiCH_2CH_2S$), 1.28 (m, 8 H, $SiCH_2CH_2CH_2Si$) 2.58 (t, $J = 8.5$ Hz, 16 H, $SiCH_2CH_2S$), 2.77 (t, $J = 7.8$ Hz, 16 H, $SCH_2CH_2N^+$), 2.94 (t, $J = 7.9$ Hz, 16 H, $SCH_2CH_2N^+$). RMN- $^{13}C\{^1H\}$ ($DMSO-d_6$): δ -5.7 ($SiCH_3$), 13.5 ($SiCH_2CH_2S$), 16.4, 17.4 y 17.6 ($SiCH_2CH_2CH_2Si$), 25.9 ($SiCH_2CH_2S$), 27.2 ($SCH_2CH_2N^+$), 38.0 ($SCH_2CH_2N^+$). RMN- ^{15}N ($DMSO-d_6$): -342.4 ($-NH_3^+$). RMN- ^{29}Si ($DMSO-d_6$): δ 1.1 (G_0-SiMe), 2.4 (G_1-SiMe). MALDI: $[M-5HCl-3Cl]^{3+} = 401.20$ uma (calcd. = 401.21 uma); $[M-4HCl-3Cl]^{3+} = 413.20$ uma (calcd. = 413.20 uma); $[M-2HCl-3Cl]^{3+} = 437.19$

uma (calcd. = 437.18 uma); $[M-6HCl-2Cl]^{2+} = 601.31$ uma (calcd. = 601.30 uma); $[M-7HCl-Cl]^+ = 1201.61$ uma (calcd. = 1201.60 uma); $[M-6HCl-Cl]^+ = 1237.58$ uma (calcd. = 1237.58 uma); $[M-8HCl+K]^+ = 1239.56$ uma (calcd. = 1239.56 uma) Anal. Calcd. $C_{48}H_{124}Cl_8N_8S_8Si_5$ (1494.12 g/mol): C, 38.59; H, 8.37; N, 7.50; S, 17.17; Exp.: C, 37.77; H, 8.36; N, 7.10; S, 16.48.

$G_2Si(S-NH_2 \cdot HCl)_{16}$ (25)

Datos: $G_2SiV_8^8$ (0.130 g, 0.09 mmol), hidrocloreuro de cisteamina (0.157 g, 1.08 mmol) y DMPA (0.028 g, 0.11 mmol). Sólido blanco (0.264 g, 89 %).

RMN- 1H (DMSO- d_6): δ -0.1 (s, 12 H, *SiMe*), 0.00 (s, 24 H, SC_2H_4SiMe), 0.53 (m, 32 H, *SiCH₂*), 0.60 (m, 16 H, $CH_2SiC_2H_4S$, superpuestas) 0.86 (t, $J = 8.3$ Hz, 32 H, *SiCH₂CH₂S*), 1.29 (m, 24 H, *SiCH₂CH₂CH₂Si*), 2.58 (t, $J = 8.2$ Hz, 32 H, *SiCH₂CH₂S*), 2.80 (t, $J = 6.4$ Hz, 32 H, $SCH_2CH_2N^+$), 2.94 (t, $J = 6.7$ Hz, 32 H, $SCH_2CH_2N^+$). RMN- $^{13}C\{^1H\}$ (DMSO): δ -5.7, -5.2 (*SiCH₃*), 13.5 (*SiCH₂CH₂S*), 16.6 – 17.8 (*SiCH₂CH₂CH₂Si*), 25.9 (*SiCH₂CH₂S*), 27.2 ($SCH_2CH_2N^+$), 38.0 ($SCH_2CH_2N^+$). RMN- ^{15}N (DMSO): -342.4 ($-NH_3^+$). RMN- ^{29}Si (DMSO): δ 1.1 (G_1-SiMe), 2.4 (G_2-SiMe). MALDI: $[M-9HCl-7Cl]^{7+} = 388.66$ uma (calcd. = 388.64 uma); $[M-10HCl-6Cl]^{6+} = 453.26$ uma (calcd. = 453.24 uma); $[M-11HCl-5Cl]^{5+} = 543.71$ uma (calcd. = 543.69 uma); $[M-12HCl-4Cl]^{4+} = 679.38$ uma (calcd. = 679.36 uma); $[M-13HCl-3Cl]^{3+} = 905.49$ uma (calcd. = 905.47 uma); $[M-14HCl-2Cl]^{2+} = 1357.71$ uma (calcd. = 1357.70 uma). Anal. Calcd. $C_{112}H_{284}Cl_{16}N_{16}S_{16}Si_{13}$ (3300.96 g/mol): C, 40.75; H, 8.67; N, 6.79; S, 15.54; Exp.: C, 40.43; H, 8.61; N, 6.41; S, 14.94.

$G_1O_3(S-NH_2 \cdot HCl)_6$ (26), $G_2O_3(S-NH_2 \cdot HCl)_{12}$ (27) y $G_3O_3(S-NH_2 \cdot HCl)_{24}$ (28)

Estos compuestos se sintetizan tal y como se ha descrito anteriormente en nuestro grupo de investigación.⁹

G₀Si(S-NMe₂·HCl)₄ (29)

Datos: G₀SiV₄ (0.250 g, 1.84 mmol), hidrocloreuro de 2-(dimetilamino)etanotiol (1.042 g, 7.36 mmol) y DMPA (0.188 g, 0.74 mmol). Sólido blanco (0.400 g, 31 %).

RMN-¹H (DMSO-d₆): δ 0.98 (t, J = 8.5 Hz, 8 H, SiCH₂CH₂S), 2.61 (t, J = 8.5 Hz, 8 H, SiCH₂CH₂S), 2.70 (s, 24 H, -NMe₂·HCl), 2.86 (t, J = 7.8 Hz, 8 H, SCH₂CH₂N⁺), 3.16 (t, J = 7.9 Hz, 8 H, SCH₂CH₂N⁺), 10.68 (sa, 4 H, -NMe₂H⁺). RMN-¹³C{¹H} (DMSO-d₆): δ 11.9 (SiCH₂CH₂S), 24.3 (SCH₂CH₂N⁺), 25.6 (SiCH₂CH₂S) 41.6 (-NMe₂⁺), 55.4 (SCH₂CH₂N⁺). RMN-¹⁵N (DMSO-d₆): -338.2 (-NMe₂H⁺). RMN-²⁹Si (DMSO-d₆): 2.6 (G₀-SiMe). MALDI: [M-3HCl-Cl]⁺ = 557.32 uma (calcd. = 557.32 uma); [M-1HCl-2Cl]²⁺ = 297.10 uma (calcd. = 297.16 uma). Anal. Calcd. C₂₄H₆₀Cl₄N₄S₄Si (702.92 g/mol): C, 41.01; H, 8.60; N, 7.97; S, 18.25; Exp.: C, 40.48; H, 8.38; N, 7.38; S, 18.88.

G₁Si(S-NMe₂·HCl)₈ (30)

Datos: G₁SiV₈⁸ (0.501 g, 0.86 mmol), hidrocloreuro de 2-(dimetilamino)etanotiol (1.071 g, 7.18 mmol) y DMPA (0.176 g, 0.69 mmol). Sólido blanco (1.183 g, 80 %).

RMN-¹H (DMSO-d₆): δ 0.03 (s, 12 H, SiMe), 0.56 (m, 8 H, SiCH₂CH₂CH₂Si), 0.63 (m, 8 H, CH₂SiC₂H₄S), 0.88 (t, J = 8.4 Hz, 16 H, SiCH₂CH₂S), 1.29 (m, 8 H SiCH₂CH₂CH₂Si), 2.61 (t, J = 8.2 Hz, 16 H, SiCH₂CH₂S), 2.75 (s, 48 H, -NMe₂HCl), 2.89 (t, J = 8.3 Hz, 16 H, SCH₂CH₂N), 3.22 (t, J = 8.3 Hz, 16 H, SCH₂CH₂N⁺), 10.70 (bs, 8 H, -NMe₂H⁺). RMN-¹³C{¹H} (DMSO-d₆): δ -5.6 (SiCH₃), 13.6 (SiCH₂CH₂S), 16.4, 17.4 y 17.6 (SiCH₂CH₂CH₂Si), 24.2 (SCH₂CH₂N⁺), 26.0 (SiCH₂CH₂S), 41.3 (-NMe₂⁺), 55.2 (SCH₂CH₂N⁺). RMN-¹⁵N (DMSO-d₆): δ -338.2 (CH₂NMe₂H⁺). RMN-²⁹Si (DMSO-d₆): δ 1.1 (G₀-SiMe), 2.4 (G₁-SiMe). Anal. Calcd. C₆₄H₁₅₆Cl₈N₈S₈Si₅ (1718.55 g/mol): C, 44.73; H, 9.15; N, 6.52; S, 14.93; Exp.: C, 44.23; H, 9.26; N, 6.36; S, 13.84.

G₂Si(S-NMe₂·HCl)₁₆ (31)

Datos: G₂SiV₁₆⁸ (0.225 g, 0.15 mmol), hidrocloreto de 2-(dimetilamino)etanotiol (0.380 g, 2.55 mmol) y DMPA (0.062 g, 0.24 mmol). Sólido blanco (0.571 g, 83 %).

RMN-¹H (DMSO-d₆): δ -0.09 (s, 12 H, SiMe), 0.02 (s, 24 H, SiMe), 0.54 (m, 24 H, SiCH₂CH₂CH₂Si), 0.61 (m, 16 H, CH₂SiC₂H₄S), 0.88 (t, J = 8.4 Hz, 32 H, SiCH₂CH₂S), 1.29 (m, 24 H, SiCH₂CH₂CH₂Si), 2.60 (t, J = 8.4 Hz, SiCH₂CH₂S), 2.75 (s, 96 H, -NMe₂·HCl), 2.89 (m, 32 H, SCH₂CH₂N⁺), 3.22 (m, 32 H, SCH₂CH₂N⁺), 10.70 (sa, 16 H, -NMe₂H⁺). RMN-¹³C{¹H} (DMSO-d₆): δ -5.7 y -5.4 (SiCH₃), 13.6 (SiCH₂CH₂S), 17.4–17.8 (SiCH₂CH₂CH₂Si), 24.2 (SCH₂CH₂N⁺), 26.0 (SiCH₂CH₂S), 41.3 (-NMe₂⁺), 55.2 (SCH₂CH₂N⁺). RMN-¹⁵N (DMSO-d₆): -338.2 (-NMe₂H⁺). RMN-²⁹Si (DMSO-d₆): δ 1.1 (G₁-SiMe), 2.4 (G₂-SiMe). Anal. Calcd. C₁₄₄H₃₄₈Cl₁₆N₁₆S₁₆Si₁₃ (3749.81 g/mol): C, 46.12; H, 9.35; N, 5.98; S, 13.68; Exp.: C, 45.16; H, 8.76; N, 5.37; S, 13.89.

G₁O₃(S-NMe₂·HCl)₆ (32)

Datos: **19** (0.374 g, 0.64 mmol), hidrocloreto de 2-(dimetilamino)etanotiol (0.631 g, 4.23 mmol) y DMPA (0.050 g, 0.19 mmol). Sólido blanco (0.533 g, 58 %).

RMN-¹H (DMSO-d₆): δ 0.03 (s, 9 H, SiMe), 0.61 (m, 6 H, OCH₂CH₂CH₂CH₂Si), 0.88 (t, J_a = 8.3 Hz, 12 H, SiCH₂CH₂S), 1.40 (m, 6 H, OCH₂CH₂CH₂CH₂Si), 1.69 (m, 6 H, OCH₂CH₂CH₂CH₂Si), 2.61 (t, J_a = 8.7 Hz, 12 H, SiCH₂CH₂S), 2.71 (s, 36 H, SCH₂CH₂NMe₂H⁺), 2.86 (t, J_b = 7.9 Hz, 12 H, SCH₂CH₂NMe₂H⁺), 3.22 (t, J_a = 8.0 Hz, 12 H, SCH₂CH₂NMe₂H⁺), 3.90 (m, 6 H, OCH₂), 6.03 (s, 3 H, C₆H₃O₃), 10.71 (sa, 6 H, -NMe₂H⁺). RMN-¹³C{¹H} (DMSO-d₆): δ -5.8 (SiCH₃), 12.2 (OCH₂CH₂CH₂CH₂Si), 13.5 (SiCH₂CH₂S), 19.3 (OCH₂CH₂CH₂CH₂Si), 24.2 (SCH₂CH₂NMe₂H⁺), 26.0 (SiCH₂CH₂S), 32.0 (OCH₂CH₂CH₂CH₂Si), 41.4 (SiCH₂CH₂NMe₂H⁺), 55.3 (SCH₂CH₂NMe₂H⁺), 66.5 (OCH₂), 93.1 (C₆H₃O₃; C-H), 159.9 (C₆H₃O₃; C-O). RMN-¹⁵N (DMSO-d₆):

δ -338.3 (-NMe₂H⁺). RMN-²⁹Si (DMSO-d₆): δ 3.1 (G₁-SiMe). Anal. Calcd. C₅₇H₁₂₆N₆Cl₆O₃S₆Si₃ (1433.01 g/mol): C, 47.77; H, 8.86; N, 5.86; S, 13.43; Exp.: C, 46.62; H, 8.76; N, 5.90; S, 12.63.H.

G₂O₃(S-NMe₂·HCl)₁₂ (33)

Datos: **20** (0.503 g, 0.40 mmol), hidrocloreuro de 2-(dimetilamino)etanotiol (0.788 g, 5.56 mmol) y DMPA (0.123 g, 0.48 mmol). Sólido blanco (0.827 g, 70 %).

RMN-¹H (DMSO-d₆): δ -0.07 (s, 9 H, SiMe), 0.02 (s, 18 H, SiMe), 0.58 (m, 30 H SiCH₂CH₂CH₂Si y OCH₂CH₂CH₂CH₂Si), 0.86 (t, J = 8.1 Hz, 24 H, SiCH₂CH₂S), 1.30 (m, 18 H SiCH₂CH₂CH₂Si y OCH₂CH₂CH₂CH₂Si), 1.65 (m, 6 H, OCH₂CH₂CH₂CH₂Si), 2.62 (t, 8.3 Hz, 24 H, SiCH₂CH₂S), 2.74 (s, 72 H, SCH₂CH₂NMe₂H⁺), 2.85 (m, 24 H, SCH₂CH₂NMe₂H⁺), 3.21 (m, 24 H, SCH₂CH₂NMe₂H⁺), 3.89 (m, 6 H, -O-CH₂), 6.01 (s, 3 H, C₆H₃O₃), 10.68 (bs, 12 H, -NMe₂H⁺). RMN-¹³C{¹H} (DMSO-d₆): δ -5.7 y -5.4 (SiCH₃), 12.8 (OCH₂CH₂CH₂CH₂Si), 13.5 (SiCH₂CH₂S), 17.2–17.6 (SiCH₂CH₂CH₂Si), 19.5 (OCH₂CH₂CH₂CH₂Si), 24.1 (SCH₂CH₂NMe₂H⁺), 26.0 (SiCH₂CH₂S), 32.1 (OCH₂CH₂CH₂CH₂Si), 41.3 (SiCH₂CH₂NMe₂H⁺), 55.2 (SCH₂CH₂NMe₂H⁺), 66.5 (OCH₂), 93.1 (C₆H₃O₃; C-H), 160.0 (C₆H₃O₃; C-O). RMN-¹⁵N (DMSO-d₆): δ -338.3 (-NMe₂H⁺). RMN-²⁹Si (DMSO-d₆): δ 1.7 (G₁-SiMe), 2.4 (G₂-SiMe). Anal. Calcd. C₄₇₇H₁₁₃₄Cl₄₈N₄₈O₃S₄₈Si₄₅ (12097.14 g/mol): C, 47.36; H, 9.45; N, 5.56; S, 12.72; Exp.: C, 47.16; H, 9.00; N, 5.40; S, 11.92.

G₃O₃(S-NMe₂·HCl)₂₄ (34)

Datos: **21** (0.252 g, 0.10 mmol), hidrocloreuro de 2-(dimetilamino)etanotiol (0.381 g, 2.69 mmol) y DMPA (0.060 g, 0.23 mmol). Sólido blanco (0.414 g, 71 %).

RMN-¹H (DMSO-d₆): δ -0.09 (s, 27 H, SiMe), 0.02 (s, 36 H, SiMe), 0.57 (m, 78 H SiCH₂CH₂CH₂Si y OCH₂CH₂CH₂CH₂Si), 0.86 (m, 48 H, SiCH₂CH₂S), 1.30 (m, 42 H SiCH₂CH₂CH₂Si y OCH₂CH₂CH₂CH₂Si), 1.65 (m, 6 H,

OCH₂CH₂CH₂CH₂Si), 2.60 (t, J = 8.3 Hz, 48 H, SiCH₂CH₂S), 2.74 (s, 144 H, SCH₂CH₂NMe₂H⁺), 2.88 (m, 48 H, SCH₂CH₂NMe₂H⁺), 3.22 (m, 48 H, SCH₂CH₂NMe₂H⁺), 3.89 (m, 6 H, OCH₂), 6.01 (s, 3 H, C₆H₃O₃), 10.68 (sa, 24 H, -NMe₂H⁺). RMN-¹³C{¹H} (DMSO-d₆): δ de -5.7 a -5.2 (SiCH₃), 12.8 (OCH₂CH₂CH₂CH₂Si), 13.6 (SiCH₂CH₂S), 17.3–17.8 (SiCH₂CH₂CH₂Si), 19.5 (OCH₂CH₂CH₂CH₂Si), 24.2 (SCH₂CH₂NMe₂H⁺), 26.0 (SiCH₂CH₂S), 41.3 (SiCH₂CH₂NMe₂H⁺), 55.2 (SCH₂CH₂NMe₂H⁺). RMN-¹⁵N (DMSO-d₆): -339.1 (-NMe₂H⁺). RMN-²⁹Si (DMSO-d₆): δ 1.0 (G₂-SiMe), 2.4 (G₃-SiMe). Anal. Calcd. C₂₃₇H₅₅₈Cl₂₄N₂₄O₃S₂₄Si₂₁ (6003.35 g/mol): C, 47.42; H, 9.37; N, 5.60; S, 12.82; Exp.: C, 46.64; H, 9.03; N, 5.20; S, 11.96.

G₄O₃(S-NMe₂·HCl)₄₈ (35)

Datos: **22** (0.172 g, 0.03 mmol), hidrocloreuro de 2-(dimetilamino)etanotiol (0.255 g, 1.71 mmol) y DMPA (0.040 g, 0.16 mmol). Sólido blanco (0.294 g, 75 %).

RMN-¹H (DMSO-d₆): δ -0.09 (s, 63 H, SiMe), 0.02 (s, 72 H, SiMe), 0.57 (m, 174 H SiCH₂CH₂CH₂Si y OCH₂CH₂CH₂CH₂Si), 0.86 (t, J=8.6 Hz, 96 H, SiCH₂CH₂S), 1.30 (m, 84 H SiCH₂CH₂CH₂Si y OCH₂CH₂CH₂CH₂Si), 1.65 (m, 6 H, OCH₂CH₂CH₂CH₂Si), 2.60 (m, 96 H, SiCH₂CH₂S), 2.73 (s, 288 H, -NMe₂H⁺), 2.88 (m, 96 H, SCH₂CH₂N⁺), 3.22 (m, 96 H, SCH₂CH₂N⁺), 3.89 (m, 6 H, OCH₂), 6.01 (s, 3 H, C₆H₃O₃). RMN-¹³C{¹H} (DMSO-d₆): δ de -5.7 a -5.3 (SiMe), 12.8 (OCH₂CH₂CH₂CH₂Si), 13.6 (SiCH₂CH₂S), 16.9–17.8 (SiCH₂CH₂CH₂Si), 19.5 (OCH₂CH₂CH₂CH₂Si), 24.2 (SiCH₂CH₂S), 26.0 (SCH₂CH₂N⁺), 32.1 (OCH₂CH₂CH₂CH₂Si), 41.4 (-NMe₂H⁺), 55.3 (SCH₂CH₂N⁺), 66.5 (OCH₂), 93.1 (C₆H₃O₃; C-H), 160.0 (C₆H₃O₃; C-O). RMN-¹⁵N (DMSO): -339.1 (-NMe₂H⁺). RMN-²⁹Si (DMSO): δ 1.0 (G₃-SiMe), 2.4 (G₄-SiMe). Anal. Calc. C₁₁₇H₂₇₀N₁₂ Cl₁₂O₃S₁₂Si₉ (2518.93 g/mol): C, 55.79; H, 10.32; N, 6.67; S, 15.28; Exp.: C, 54.79; H, 9.62; N, 6.56; S, 14.58.

4.5.2.8 Dendrímeros con grupos $-NMe_2$ terminales obtenidos por hidrotiolación (36-42)

Método sintético 7.

$G_0Si(S-NMe_2)_4$ (36)

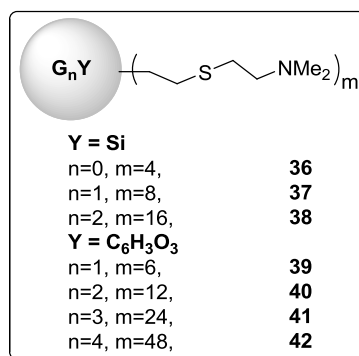
Datos: **29** (0.124 g, 0.18 mmol) y NaOH (0.028 g, 0.70 mmol). Aceite amarillento (0.078 g, 80 %).

RMN- 1H ($CDCl_3$): δ 0.80 (t, $J = 8.6$ Hz, 8 H, $SiCH_2CH_2S$), 2.21 (s, 24 H, $-NMe_2$), 2.40 (m, 8 H, SCH_2CH_2N), 2.43 (m, 8 H, $SiCH_2CH_2S$, superpuestas), 2.45 (m, 8 H, SCH_2CH_2N , superpuestas). RMN- $^{13}C\{^1H\}$ ($CDCl_3$): δ 13.0 ($SiCH_2CH_2S$), 27.3 ($SiCH_2CH_2S$), 29.9 (SCH_2CH_2N), 45.3 ($-NMe_2$), 59.1 (SCH_2CH_2N). RMN- ^{15}N ($CDCl_3$): δ -352.1 ($-NMe_2$). RMN- ^{29}Si ($CDCl_3$): δ 2.2 (G_0-SiMe). MALDI: $[M+H]^+ = 557.32$ uma (calcd. = 557.40 uma). Anal. Calcd. $C_{24}H_{56}N_4S_4Si$ (557.07 g/mol): C, 51.74; H, 10.13; N, 10.06; S, 23.02; Exp.: C, 52.65; H, 9.46; N, 9.46; S, 22.07.

$G_1Si(S-NMe_2)_8$ (37)

Datos: **37** (0.887 g, 0.52 mmol) y NaOH (0.198 g, 4.95 mmol). Aceite amarillento (0.605 g, 82 %).

RMN- 1H ($CDCl_3$): δ -0.09 (s, 12 H, $SiMe$), 0.45 (t, $J = 9.0$ Hz, 8 H, $SiCH_2CH_2CH_2Si$), 0.51 (t, $J = 8.2$ Hz, 8H, $CH_2SiC_2H_4S$), 0.80 (t, $J = 8.6$ Hz, 8 H, $SiCH_2CH_2S$), 1.19 (m, 8 H, $SiCH_2CH_2CH_2Si$), 2.14 (s, 48 H, $-NMe_2$), 2.40 (m, 8 H, SCH_2CH_2N), 2.43 (m, 8 H, $SiCH_2CH_2S$, superpuestas), 2.45 (m, 8 H, $SCH_2CH_2NMe_2$, superpuestas). RMN- $^{13}C\{^1H\}$ ($CDCl_3$): δ -5.4 ($SiCH_3$), 14.4 ($SiCH_2CH_2S$), 17.3, 18.2 y 18.4 ($SiCH_2CH_2CH_2Si$), 27.5 ($SiCH_2CH_2S$), 29.6 (SCH_2CH_2N), 45.2 ($-NMe_2$), 59.1 (SCH_2CH_2N). RMN- ^{15}N ($CDCl_3$): δ -352.1 ($-NMe_2$). RMN- ^{29}Si ($CDCl_3$): δ 1.0 (G_0-SiMe), 2.0 (G_1-SiMe). Anal. Calcd.



$C_{64}H_{148}N_8S_8Si_5$ (1426.86 g/mol): C, 53.87; H, 10.45; N, 7.85; S, 17.98; Exp.: C, 54.45; H, 10.80; N, 7.83; S, 18.06.

$G_2Si(S-NMe_2)_{16}$ (38)

Datos: **31** (0.400 g, 0.11 mmol) y NaOH (0.088 g, 2.20 mmol). Aceite amarillento (0.334, 99 %).

RMN- 1H ($CDCl_3$): -0.11 (s, 12 H, *SiMe*), -0.01 (s, 24 H, *SiMe*), 0.55 (m, 48 H, *SiCH₂CH₂CH₂Si*), 0.87 (t, $J = 8.6$ Hz, 32 H, *SiCH₂CH₂S*), 1.26 (m, 24 H, *SiCH₂CH₂CH₂Si*), 2.22 (s, 96 H, *-NMe₂*), 2.47 (m, 24 H, *SCH₂CH₂N*), 2.53 (m, 24 H, *SiCH₂CH₂S*), 2.59 (m, 24 H, *SCH₂CH₂N*). RMN- $^{13}C\{^1H\}$ ($CDCl_3$): -5.2 y -5.0 (*SiCH₃*), 14.6 (*SiCH₂CH₂S*), 17.7–19.2 (*SiCH₂CH₂CH₂Si*), 27.7 (*SiCH₂CH₂S*), 29.8 (*SCH₂CH₂N*), 45.4 (*-NMe₂*), 59.3 (*SCH₂CH₂NMe₂*). RMN- ^{15}N ($CDCl_3$): -352.1 (*-NMe₂*). RMN- ^{29}Si ($CDCl_3$): δ 2.0 (G_2 -*SiMe*). Anal. Calcd. $C_{144}H_{332}N_{16}S_{16}Si_{13}$ (3166.44 g/mol): C, 54.62; H, 10.57; N, 7.08; S, 16.20; Exp.: C, 54.65; H, 9.88; N, 6.58; S, 15.59.

$G_1O_3(S-NMe_2)_6$ (39)

Datos: **32** (0.265 g, 0.18 mmol) y NaOH (0.055 g, 1.38 mmol). Aceite amarillento (0.224 g, 100 %).

RMN- 1H ($CDCl_3$): δ 0.01 (s, 9 H, *SiMe*), 0.60 (m, 6 H, *OCH₂CH₂CH₂CH₂Si*), 0.90 (t, $J = 8.6$ Hz, 12 H, *SiCH₂CH₂S*), 1.45 (m, 6 H, *OCH₂CH₂CH₂CH₂Si*), 1.75 (m, 6 H, *OCH₂CH₂CH₂CH₂Si*), 2.25 (s, 36 H, *-NMe₂*), 2.47 (m, 12 H, *SCH₂CH₂N*), 2.52 (m, 12 H, *SiCH₂CH₂S*), 2.59 (m, 12 H, *SCH₂CH₂N*), 3.85 (t, $J = 6.3$ Hz, 6 H, *OCH₂*), 6.02 (s, 3 H, $C_6H_3O_3$). RMN- $^{13}C\{^1H\}$ ($CDCl_3$): δ -5.4 (*SiCH₃*), 13.3 (*OCH₂CH₂CH₂CH₂Si*), 14.5 (*SiCH₂CH₂S*), 20.3 (*OCH₂CH₂CH₂CH₂Si*), 27.6 (*SiCH₂CH₂S*), 29.8 (*SCH₂CH₂N*), 33.0 (*OCH₂CH₂CH₂CH₂Si*), 45.4 (*-NMe₂*), 59.2 (*SCH₂CH₂NMe₂*), 67.3 (*OCH₂*), 93.7 ($C_6H_3O_3$; *C-H*), 160.8 ($C_6H_3O_3$; *C-O*). RMN- ^{15}N ($CDCl_3$): δ -352.1 (*-NMe₂*). RMN- ^{29}Si ($CDCl_3$): δ 2.4 (G_1 -*SiMe*). MALDI: $[M+H]^+ = 1213.7$

uma (calcd. = 1213.8 uma). Anal. Calcd. $C_{57}H_{120}N_6O_3S_6Si_3$ (1214.25 g/mol): C, 56.38; H, 9.96; N, 6.92; S, 15.84; Exp.: C, 55.68; H, 9.43; N, 6.77; S, 14.94.

$G_2O_3(S-NMe_2)_{12}$ (40)

Datos: **33** (0.827 g, 0.28 mmol) y NaOH (0.168 g, 4.20 mmol). Aceite amarillento (0.705, 100 %).

RMN- 1H ($CDCl_3$): δ -0.08 (s, 9 H, *SiMe*), -0.01 (s, 18 H, *SiMe*), 0.56 (m, 30 H $SiCH_2CH_2CH_2Si$ y $OCH_2CH_2CH_2CH_2Si$), 0.88 (t, $J = 8.6$ Hz, 24 H, $SiCH_2CH_2S$), 1.27 (m, 12 H $SiCH_2CH_2CH_2Si$), 1.39 (m, 6 H, $OCH_2CH_2CH_2CH_2Si$), 1.65 (m, 6 H, $OCH_2CH_2CH_2CH_2Si$), 2.23 (s, 72 H, -*NMe*₂), 2.48 (m, 24 H, SCH_2CH_2N), 2.52 (m, 24 H, $SiCH_2CH_2S$), 2.57 (m, 24 H, SCH_2CH_2N), 3.85 (t, $J = 6.3$ Hz, 6 H, OCH_2), 6.03 (s, 3 H, $C_6H_3O_3$). RMN- $^{13}C\{^1H\}$ ($CDCl_3$): δ -5.3 ($SiCH_3$), -5.1 ($SiCH_3$), 13.3 ($OCH_2CH_2CH_2CH_2Si$), 14.6 ($SiCH_2CH_2S$), 18.3–18.7 ($SiCH_2CH_2CH_2Si$), 20.5 ($OCH_2CH_2CH_2CH_2Si$), 27.7 ($SiCH_2CH_2S$), 29.6 (SCH_2CH_2N), 33.0 ($OCH_2CH_2CH_2CH_2Si$), 45.2 (-*NMe*₂), 59.1 ($SCH_2CH_2NMe_2$), 68.0 (OCH_2), 93.7 ($C_6H_3O_3$; C-H), 160.8 ($C_6H_3O_3$; C-O). RMN- ^{15}N ($CDCl_3$): δ -352.1 (-*NMe*₂). RMN- ^{29}Si ($CDCl_3$): δ 1.6 (G_1-SiMe), 2.0 (G_2-SiMe). Anal. Calcd. $C_{117}H_{258}N_{12}O_3S_{12}Si_9$ (2518.93 g/mol): C, 55.79; H, 10.32; N, 6.67; S, 15.28; Exp.: C, 54.79; H, 9.62; N, 6.56; S, 14.58.

$G_3O_3(S-NMe_2)_{24}$ (41)

Datos: **34** (0.414 g, 0.07 mmol) y NaOH (0.083 g, 2.07 mmol). Aceite amarillento (0.354, 100 %).

RMN- 1H ($CDCl_3$): δ -0.10 (s, 27 H, *SiMe*), 0.00 (s, 36 H, *SiMe*), 0.53 (m, 78 H $SiCH_2CH_2CH_2Si$ y $OCH_2CH_2CH_2CH_2Si$), 0.88 (t, $J = 8.6$ Hz, 48 H, $SiCH_2CH_2S$), 1.27 (m, 36 H $SiCH_2CH_2CH_2Si$), 1.39 (m, 6 H, $OCH_2CH_2CH_2CH_2Si$), 1.70 (m, 6 H, $OCH_2CH_2CH_2CH_2Si$), 2.23 (s, 144 H, -*NMe*₂), 2.48 (m, 48 H, SCH_2CH_2N), 2.54 (m, 48 H, $SiCH_2CH_2S$), 2.60 (m, 48 H, SCH_2CH_2N), 3.85 (t, $J = 6.3$ Hz, 6 H, OCH_2), 6.03 (s, 3 H, $C_6H_3O_3$). RMN- $^{13}C\{^1H\}$ ($CDCl_3$): δ -5.3 ($SiCH_3$), -5.2 ($SiCH_3$), 13.3 ($OCH_2CH_2CH_2CH_2Si$), 14.6

(SiCH₂CH₂S), 18.5–18.8 (SiCH₂CH₂CH₂Si), 20.5 (OCH₂CH₂CH₂CH₂Si), 27.7 (SiCH₂CH₂S), 29.8 (SCH₂CH₂N), 33.0 (OCH₂CH₂CH₂CH₂Si), 45.4 (-NMe₂), 59.3 (SCH₂CH₂N), 68.0 (OCH₂), 93.7 (C₆H₃O₃; C-H), 160.8 (C₆H₃O₃; C-O). RMN-¹⁵N (CDCl₃): δ -352.1 (-NMe₂). RMN-²⁹Si (CDCl₃): δ 0.9 (G₂-SiMe), 2.0 (G₃-SiMe). Anal. Calcd. C₂₃₇H₅₃₄N₂₄O₃S₂₄Si₂₁ (5128.29 g/mol): C, 55.51; H, 10.50; N, 6.56; S, 15.01; Exp.: C, 55.06; H, 9.90; N, 6.55; S, 14.31.

G₄O₃(S-NMe₂)₄₈ (42)

Datos: **35** (0.216 g, 0.02 mmol) y NaOH (0.041 g, 1.02 mmol). Aceite amarillento (0.185, 100 %).

RMN-¹H (CDCl₃): δ -0.09 (s, 63 H, SiMe), 0.00 (s, 72 H, SiMe), 0.58 (m, 174 H SiCH₂CH₂CH₂Si y OCH₂CH₂CH₂CH₂Si), 0.88 (t, J = 8.6 Hz, 96 H, SiCH₂CH₂S), 1.28 (m, 84 H, SiCH₂CH₂CH₂Si), 1.39 (m, 6 H, OCH₂CH₂CH₂CH₂Si), 1.70 (m, 6 H, OCH₂CH₂CH₂CH₂Si), 2.24 (s, 288 H, -NMe₂), 2.51 (m, 96 H, SCH₂CH₂N), 2.56 (m, 96 H, SiCH₂CH₂S), 2.61 (m, 96 H, -SCH₂CH₂N), 3.85 (t, J = 6.3 Hz, 6 H, -OCH₂), 6.03 (s, 3 H, C₆H₃O₃). RMN-¹³C{¹H} (CDCl₃): δ -5.0 (SiCH₃), 13.3 (OCH₂CH₂CH₂CH₂Si), 14.6 (SiCH₂CH₂S), 18.5–18.8 (SiCH₂CH₂CH₂Si), 20.5 (OCH₂CH₂CH₂CH₂Si), 27.7 (SiCH₂CH₂S), 29.8 (SCH₂CH₂N), 33.0 (OCH₂CH₂CH₂CH₂Si), 45.4 (-NMe₂), 59.2 (SCH₂CH₂N), 68.0 (OCH₂), 93.7 (C₆H₃O₃; C-H), 160.8 (C₆H₃O₃; C-O). RMN-²⁹Si (CDCl₃): δ 1.64 (G₄-SiMe), 0.9 (G₃-SiMe y G₂-SiMe). RMN-¹⁵N (CDCl₃): δ -352.1 (-SiCH₂-CH₂-NMe₂). Anal. Calcd. C₄₇₇H₁₀₈₆N₄₈O₃S₄₈Si₄₅ (10347.01 g/mol): C, 55.37; H, 10.58; N, 6.50; S, 14.88; Exp.: C, 55.97; H, 10.67; N, 7.50; S, 14.79.

4.5.2.9 Dendrímeros con grupos $-NMe_3^+$ terminales obtenidos por hidrotiolación (43-49)

Método sintético 4.

$G_0Si(S-NMe_3^+I)_4$ (43)

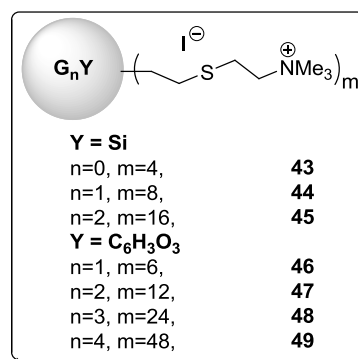
Datos: **36** (0.078 g, 0.14 mmol) y MeI (0.05 ml, 0.80 mmol). Sólido de color blanco (0.115 g, 72 %).

RMN- 1H (DMSO- d_6): δ 1.00 (t, $J = 8.3$ Hz, 8 H, $SiCH_2CH_2S$), 2.68 (t, $J = 8.4$ Hz, 8 H, $SiCH_2CH_2S$), 2.93 (t, $J = 8.1$ Hz, 8 H, $SCH_2CH_2N^+$), 3.25 (s, 36 H, $-NMe_3^+$), 3.57 (t, $J = 8.2$ Hz, 8 H, $SCH_2CH_2N^+$). RMN- $^{13}C\{^1H\}$ (DMSO- d_6): δ 12.3 ($SiCH_2CH_2S$), 23.2 ($SCH_2CH_2NMe_3I$), 26.2 ($SiCH_2CH_2S$), 51.8 ($SiCH_2CH_2NMe_3I$), 64.0 ($SCH_2CH_2NMe_2$). RMN- ^{15}N (DMSO- d_6): δ -330.0 ($-NMe_3I$). RMN- ^{29}Si (DMSO- d_6): δ 2.7 (G_0-SiMe_2). MALDI: $[M-3I]^{3+} = 248.00$ uma (calcd. = 247.77 uma). Anal. Calcd. $C_{28}H_{68}I_4N_4S_4Si$ (1124.83 g/mol): C, 29.90; H, 6.09; N, 4.98; S, 11.40; Exp.: C, 29.80; H, 6.31; N, 4.29; S, 10.40.

$G_1Si(S-NMe_3^+I)_8$ (44)

Datos: **37** (0.416 g, 0.29 mmol) y MeI (0.18 ml, 2.80 mmol). Sólido de color blanco (0.66 g, 88 %).

RMN- 1H (DMSO- d_6): δ 0.05 (s, 12 H, $SiMe$), 0.54 (m, 8 H, $SiCH_2CH_2CH_2Si$), 0.64 (m, 8 H, $CH_2SiC_2H_4S$), 0.86 (t, $J = 8.3$ Hz, 16 H, $SiCH_2CH_2S$), 1.28 (m, 8 H, $SiCH_2CH_2CH_2Si$), 2.65 (t, $J = 8.4$ Hz, 16 H, $SiCH_2CH_2S$), 2.91 (t, $J = 8.1$ Hz, 16 H, $SCH_2CH_2N^+$), 3.13 (s, 72 H, NMe_3^+), 3.59 (t, $J = 8.2$ Hz, 96 H, $SCH_2CH_2N^+$). RMN- $^{13}C\{^1H\}$ (DMSO- d_6): -5.5 ($SiCH_3$), 13.7 ($SiCH_2CH_2S$), 17.3–18.0 ($SiCH_2CH_2CH_2Si$), 23.2 ($SCH_2CH_2NMe_3^+$), 26.5 ($SiCH_2CH_2S$), 51.8 ($SiCH_2CH_2NMe_3^+$), 64.0 ($SCH_2CH_2NMe_3^+$). RMN- ^{15}N (DMSO- d_6): δ -330.0 ($-NMe_3^+$). RMN- ^{29}Si (DMSO- d_6): δ 0.9 (G_0-SiMe), 2.4 (G_1-SiMe_2). Anal. Calcd. $C_{72}H_{172}I_8N_8S_8Si_5$



(2562.37 g/mol): C, 33.75; H, 6.77; N, 4.37; S, 10.01; Exp.: C, 33.18; H, 6.90; N, 4.29; S, 9.40.

G₂Si(S-NMe₃⁺I)₁₆ (45)

Datos: **38** (0.134 g, 0.04 mmol) y MeI (0.05 ml, 0.80 mmol). Sólido de color blanco (0.165 g, 72 %).

RMN-¹H (DMSO-d₆): δ -0.09 (s, 12 H, SiMe), 0.05 (s, 24 H, SiMe), 0.52 (m, 32 H, SiCH₂CH₂CH₂Si), 0.62 (m, 16 H, CH₂SiCH₂CH₂S), 0.85 (t, J_a = 7.6 Hz, 32 H, SiCH₂CH₂S), 1.25 (m, 24 H, SiCH₂CH₂CH₂Si), 2.65 (t, J_a = 7.5 Hz, 32 H, SiCH₂CH₂S), 2.91 (t, J_b = 6.9 Hz, 32 H, SCH₂CH₂NMe₃I), 3.15 (s, 144 H, SCH₂CH₂NMe₃I), 3.60 (m, 32 H, SCH₂CH₂NMe₃I). RMN-¹³C{¹H} (DMSO-d₆): δ -5.5 (SiCH₃), 13.7 (SiCH₂CH₂S), 17.3–18.0 (SiCH₂CH₂CH₂Si), 23.2 (SCH₂CH₂NMe₃I), 26.5 (SiCH₂CH₂S), 51.8 (SiCH₂CH₂NMe₃⁺), 64.0 (SCH₂CH₂NMe₃⁺). RMN-¹⁵N (DMSO-d₆): δ -330.0 (-NMe₃I). RMN-²⁹Si (DMSO-d₆): δ 2.4 (G₂-SiMe). ESI: q=4 (1231.35 [M-4I]⁴⁺), q=5 (959.68 [M-5I]⁵⁺), q=6 (778.55 [M-6I]⁶⁺). Anal. Calcd. C₁₆₀H₃₈₀I₁₆N₁₆S₁₆Si₁₃ (5437.45 g/mol): C, 35.34; H, 7.04; N, 4.12; S, 9.44; Exp.: C, 35.07; H, 6.98; N, 4.01; S, 8.82.

G₁O₃(S-NMe₃⁺I)₆ (46)

Datos: **39** (0.198 g, 0.16 mmol) y MeI (0.07 ml, 1.12 mmol). Sólido de color blanco (0.31 g, 93 %).

RMN-¹H (DMSO-d₆): δ 0.05 (s, 9 H, SiMe), 0.63 (m, 6 H, OCH₂CH₂CH₂CH₂Si), 0.88 (m, 12 H, SiCH₂CH₂S), 1.41 (m, 6 H, OCH₂CH₂CH₂CH₂Si), 1.69 (m, 6 H, OCH₂CH₂CH₂CH₂Si), 2.64 (m, 12 H, SiCH₂CH₂S), 2.89 (m, 12 H, SCH₂CH₂NMe₃⁺), 3.09 (s, 54 H, SCH₂CH₂NMe₃I), 3.53 (m, 12 H, SCH₂CH₂NMe₃⁺), 3.89 (t, 6 H, OCH₂), 6.02 (s, 3 H, C₆H₃O₃). RMN-¹³C{¹H} (DMSO-d₆): δ -6.4 (SiCH₃), 11.8 (OCH₂CH₂CH₂CH₂Si), 12.9 (SiCH₂CH₂S), 18.5 (OCH₂CH₂CH₂CH₂Si), 22.3 (SCH₂CH₂NMe₃⁺), 25.5 (SiCH₂CH₂S), 31.4 (OCH₂CH₂CH₂CH₂Si), 51.0 (SiCH₂CH₂NMe₃⁺), 63.3

(SCH₂CH₂NMe₃⁺), 66.1 (OCH₂), 92.0 (C₆H₃O₃; C-H), 160.7 (C₆H₃O₃; C-O). RMN-¹⁵N (DMSO-d₆): δ -330.0 (-NMe₃⁺). RMN-²⁹Si (DMSO-d₆): δ 3.3 (G₁-SiMe). ESI: q=2 (905.24 [M-2I]²⁺), q=3 (561.18 [M-3I]³⁺), q=4 (389.17 [M-4I]⁴⁺). Anal. Calcd. C₆₃H₁₃₈I₆N₆O₃Si₃ (2065.88 g/mol): C, 36.63; H, 6.73; N, 4.07; S, 9.31; Exp.: C, 37.26; H, 6.67; N, 3.89; S, 8.46.

G₂O₃(S-NMe₃⁺I)₁₂ (47)

Datos: **47** (0.148 g, 0.06 mmol) y MeI (0.04 ml, 0.70 mmol). Sólido de color blanco (0.233 g, 94 %).

RMN-¹H (DMSO-d₆): δ -0.03 (s, 9 H, SiMe), 0.08 (s, 18 H, SiMe), 0.59 (m, 18 H, OCH₂CH₂CH₂CH₂Si y SiCH₂CH₂CH₂Si), 0.68 (m, 12 H, CH₂SiC₂H₄S), 0.90 (m, 24 H, SiCH₂CH₂S), 1.36 (m, 18 H, OCH₂CH₂CH₂CH₂Si y SiCH₂CH₂CH₂Si), 1.71 (m, 6 H, OCH₂CH₂CH₂CH₂Si), 2.67 (m, 24 H, SiCH₂CH₂S), 2.94 (m, 24 H, SCH₂CH₂NMe₃⁺), 3.15 (s, 108 H, SCH₂CH₂NMe₃⁺), 3.60 (m, 24 H, SCH₂CH₂NMe₃⁺), 3.91 (t, 6 H, OCH₂), 6.02 (s, 3 H, C₆H₃O₃). RMN-¹³C {¹H} (DMSO-d₆): δ -5.6 (SiCH₃), 11.8 (OCH₂CH₂CH₂CH₂Si), 13.6 (SiCH₂CH₂S), 17.2–19.6 (OCH₂CH₂CH₂CH₂Si y SiCH₂CH₂CH₂Si), 23.1 (SCH₂CH₂NMe₃⁺), 26.4 (SiCH₂CH₂S), 32.3 (OCH₂CH₂CH₂CH₂Si), 51.7 (SiCH₂CH₂NMe₃⁺), 63.9 (SCH₂CH₂NMe₃⁺), 66.9 (OCH₂), 93.4 (C₆H₃O₃; C-H), 160.7 (C₆H₃O₃; C-O). RMN-¹⁵N (DMSO-d₆): δ -330.0 (-NMe₃⁺). RMN-²⁹Si (DMSO-d₆): δ 1.8 (G₁-SiMe), 2.5 (G₂-SiMe). ESI: q=2 (1982.54 [M-2I]²⁺), q=3 (1279.40 [M-3I]³⁺), q=4 (927.79 [M-4I]⁴⁺), q=5 (716.86 [M-5I]⁵⁺). Anal. Calcd. C₁₂₉H₂₉₄I₁₂N₁₂O₃S₁₂Si₉ (4222.20 g/mol): C, 36.70; H, 7.02; N, 3.98; S, 9.11; Exp.: C, 36.10; H, 6.80; N, 4.01; S, 7.31.

G₃O₃(S-NMe₃⁺I)₂₄ (48)

Datos: **41** (0.186 g, 0.04 mmol) y MeI (0.05 ml, 0.87 mmol). Sólido blanco (0.303 g, 98 %).

RMN-¹H (DMSO-d₆): δ -0.08 (s, 27 H, SiMe), 0.05 (s, 36 H, SiMe), 0.53 (m, 54 H, OCH₂CH₂CH₂CH₂Si y SiCH₂CH₂CH₂Si), 0.63 (m, 24 H, CH₂SiC₂H₄S), 0.86 (m, 48 H, SiCH₂CH₂S), 1.28 (m, 42 H, OCH₂CH₂CH₂CH₂Si

y $\text{SiCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{Si}$), 1.69 (m, 6 H, $\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{Si}$), 2.65 (m, 48 H, $\text{SiCH}_2\text{CH}_2\text{S}$), 2.91 (m, 48 H, $\text{SCH}_2\text{CH}_2\text{N}^+$), 3.14 (s, 216 H, $-\text{NMe}_3^+$), 3.59 (m, 48 H, $\text{SCH}_2\text{CH}_2\text{N}^+$), 3.89 (t, 6 H, OCH_2), 6.01 (s, 3 H, $\text{C}_6\text{H}_3\text{O}_3$). RMN- $^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ (DMSO- d_6): δ de -6.0 a -5.5 (SiCH_3), 11.8 ($\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{Si}$), 13.9 ($\text{SiCH}_2\text{CH}_2\text{S}$), 17.0–19.0 ($\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{Si}$ y $\text{SiCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{Si}$), 23.3 ($\text{SCH}_2\text{CH}_2\text{NMe}_3^+$), 26.5 ($\text{SiCH}_2\text{CH}_2\text{S}$), 31.4 ($\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{Si}$), 51.8 ($\text{SiCH}_2\text{CH}_2\text{NMe}_3^+$), 64.0 ($\text{SCH}_2\text{CH}_2\text{NMe}_3^+$), 66.1 (OCH_2), 92.0 ($\text{C}_6\text{H}_3\text{O}_3$; C-H), 160.7 ($\text{C}_6\text{H}_3\text{O}_3$; C-O). RMN- ^{15}N (DMSO- d_6): δ -330.0 ($-\text{NMe}_3^+$). RMN- ^{29}Si (DMSO- d_6): δ 0.9 (G_2-SiMe), 2.3 (G_3-SiMe_2). ESI: $q=6$ (1295.48 $[\text{M}-6\text{I}]^{6+}$), $q=7$ (1092.29 $[\text{M}-7\text{I}]^{7+}$). $\text{C}_{261}\text{H}_{606}\text{I}_{24}\text{N}_{24}\text{O}_3\text{S}_{24}\text{Si}_{21}$ (8534.83 g/mol): C, 36.73; H, 7.16; N, 3.94; S, 9.02; Exp.: C, 36.44; H, 7.10; N, 4.02; S, 8.52.

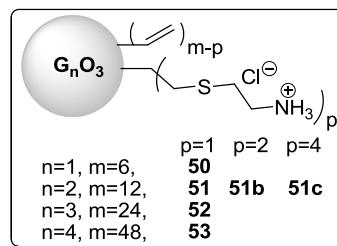
$\text{G}_4\text{O}_3(\text{S}-\text{NMe}_3^+\text{I})_{48}$ (49)

Datos: **42** (0.176 g, 0.02 mmol) y MeI (0.06 ml, 0.90 mmol). Sólido blanco (0.229 g, 78 %).

RMN- ^1H (DMSO- d_6): δ -0.08 (s, 63 H, SiMe), 0.05 (s, 72 H, SiMe), 0.54 (m, 126 H, $\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{Si}$ y $\text{SiCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{Si}$), 0.63 (m, 48 H, $\text{SiCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{Si}$), 0.85 (m, 96 H, $\text{SiCH}_2\text{CH}_2\text{S}$), 1.27 (m, 90 H, $\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{Si}$ y $\text{SiCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{Si}$), 1.69 (m, 6 H, $\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{Si}$), 2.66 (m, 96 H, $\text{SiCH}_2\text{CH}_2\text{S}$), 2.94 (m, 96 H, $-\text{SCH}_2\text{CH}_2\text{N}^+$), 3.17 (s, 432 H, $-\text{NMe}_3^+$), 3.62 (m, 96 H, $-\text{SCH}_2\text{CH}_2\text{N}^+$), 3.89 (t, 6 H, OCH_2), 6.02 (s, 3H, $\text{C}_6\text{H}_3\text{O}_3$). RMN- $^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ (DMSO- d_6): δ -6.2 (SiCH_3), -6.0 (SiCH_3), 11.8 ($\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{Si}$), 13.0 ($\text{SiCH}_2\text{CH}_2\text{S}$), 16.8–17.1 ($\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{Si}$ y $\text{SiCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{Si}$), 22.5 ($\text{SCH}_2\text{CH}_2\text{N}^+$), 25.8 ($\text{SiCH}_2\text{CH}_2\text{S}$), 31.4 ($\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{Si}$), 51.1 ($-\text{NMe}_3^+$), 63.4 ($\text{SCH}_2\text{CH}_2\text{N}^+$), 66.1 (OCH_2), 92.0 ($\text{C}_6\text{H}_3\text{O}_3$; C-H), 160.7 ($\text{C}_6\text{H}_3\text{O}_3$; C-O). RMN- ^{29}Si (DMSO- d_6): δ 0.9 (G_3-SiMe), 2.3 (G_4-SiMe_2). RMN- ^{15}N (DMSO- d_6): δ -330.0 ($-\text{NMe}_3^+$). Anal. Calc. $\text{C}_{525}\text{H}_{1230}\text{I}_{48}\text{N}_{48}\text{O}_3\text{S}_{48}\text{Si}_{45}$ (17144.79 g/mol): C, 36.75; H, 7.22; N, 3.92; S, 8.97; Exp.: C, 36.68; H, 6.95; N, 3.79; S, 8.27.

4.5.2.10 Dendrímeros con grupos vinilo y NH_3^+ terminales (50-53)

Método 6b.



$\text{G}_1\text{O}_3(\text{S}-\text{NH}_3^+\text{Cl}^-)\text{V}_5$ (50)

Datos: **19** (0.306 g, 0.52 mmol), hidrocloreuro de cisteamina (0.060 g, 0.52 mmol) y DMPA (0.013 g, 0.05 mmol). Aceite amarillento viscoso (0.317 g, 87%).

RMN- ^1H (CDCl_3): δ 0.08 y 0.12 (s, 9 H, *SiMe*), 0.67 (t, $J_a = 8.3$ Hz, 6 H, $\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{Si}$), 0.90 (t, $J_b = 8.5$ Hz, 2 H, $\text{SiCH}_2\text{CH}_2\text{S}$), 1.46 (m, 6 H, $\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{Si}$), 1.76 (m, 6 H, $\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{Si}$), 2.55 (t, $J_b = 8.5$ Hz, 2 H, $\text{SiCH}_2\text{CH}_2\text{S}$), 2.89 (m, 2 H, $\text{SCH}_2\text{CH}_2\text{N}^+$), 3.20 (m, 2 H, $\text{SCH}_2\text{CH}_2\text{N}^+$), 3.87 (t, $J_c = 6.2$ Hz, 6 H, OCH_2), 5.70 y 6.07 (m, 18 H, SiC_2H_3 y $\text{C}_6\text{H}_3\text{O}_3$). RMN- $^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ (CDCl_3): δ -5.4 (SiCH_3), 13.6 ($\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{Si}$), 14.5 ($\text{SiCH}_2\text{CH}_2\text{S}$), 20.2 ($\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{Si}$), 27.2 ($\text{SiCH}_2\text{CH}_2\text{S}$), 28.8 ($\text{SCH}_2\text{CH}_2\text{N}^+$), 32.7 ($\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{Si}$), 39.0 ($\text{SCH}_2\text{CH}_2\text{N}^+$), 67.4 (OCH_2), 93.6 ($\text{C}_6\text{H}_3\text{O}_3$; C-H), 132.8 (SiCHCH_2), 136.6 (SiCHCH_2), 160.8 ($\text{C}_6\text{H}_3\text{O}_3$; C-O).

$\text{G}_2\text{O}_3(\text{S}-\text{NH}_3^+\text{Cl}^-)\text{V}_{11}$ (51a)

Datos: **20** (0.865 g, 0.69 mmol), hidrocloreuro de cisteamina (0.078 g, 0.69 mmol) y DMPA (0.018 g, 0.07 mmol). Aceite amarillento viscoso (0.754 g, 80%).

RMN- ^1H (CDCl_3): δ -0.10 (s, 9 H, *SiMe*), 0.11 (s, 18 H, *SiMe*), 0.54 (m, 18 H, $\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{SiCH}_2$), 0.69 (m, 12 H, $\text{CH}_2\text{SiC}_2\text{H}_3$), 0.86 (m, 2 H, $\text{SiCH}_2\text{CH}_2\text{S}$), 1.22 (m, 12 H, $\text{SiCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{Si}$), 1.54 (m, 6 H, $\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{Si}$), 1.74 (m, 6 H, $\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{Si}$), 2.50 (m, 2 H, $\text{SiCH}_2\text{CH}_2\text{S}$), 2.88 (m, 2 H, $\text{SCH}_2\text{CH}_2\text{N}^+$), 3.20 (m, 2 H, $\text{SCH}_2\text{CH}_2\text{N}^+$), 3.87 (t, $J_c = 6.2$ Hz, 6 H, OCH_2), 5.68 y 6.06 (m, 36 H, SiC_2H_3 y $\text{C}_6\text{H}_3\text{O}_3$). RMN- $^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ (CDCl_3): δ -5.2 (SiCH_3), -5.1 (SiCH_3), 13.7 ($\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{Si}$), 18.3, 18.5 y 18.7 ($\text{SiCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{Si}$), 20.5 ($\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{Si}$), 27.4 ($\text{SiCH}_2\text{CH}_2\text{S}$), 30.3

(SCH₂CH₂N⁺), 33.2 (OCH₂CH₂CH₂CH₂Si), 67.6 (OCH₂), 93.7 (C₆H₃O₃; C-H), 132.6 (SiCHCH₂), 137.2 (SiCHCH₂), 160.9 (C₆H₃O₃; C-O).

Los compuestos **51b** y **51c** no se aislaron.

G₃O₃(S-NH₃⁺Cl⁻)V₂₃ (52)

Datos: **21** (0.324 g, 0.12 mmol), hidrocloreuro de cisteamina (0.014 g, 0.12 mmol) y DMPA (0.003 g, 0.01 mmol). Aceite amarillento viscoso (0.291 g, 86%).

RMN-¹H (CDCl₃): δ -0.10 (s, 27 H, SiMe), 0.11 (s, 36 H, SiMe), 0.54 (m, 54 H, OCH₂CH₂CH₂CH₂ y SiCH₂CH₂CH₂Si), 0.69 (m, 24 H, CH₂SiC₂H₃), 0.86 (m, 2 H, SiCH₂CH₂S), 1.22 (m, 42 H, SiCH₂CH₂CH₂Si y OCH₂CH₂CH₂CH₂Si), 1.74 (m, 6 H, OCH₂CH₂CH₂CH₂Si), 2.50 (m, 2 H, SiCH₂CH₂S), 2.88 (m, 2 H, SCH₂CH₂N⁺), 3.20 (m, 2 H, SCH₂CH₂N⁺), 3.87 (m, 6 H, OCH₂), 5.68 y 6.06 (m, 72 H, SiC₂H₃ y C₆H₃O₃). RMN-¹³C{¹H} (CDCl₃): δ de -5.3 a -5.1 (SiCH₃), 14.0 (OCH₂CH₂CH₂CH₂Si), 17.8–19.0 (SiCH₂CH₂CH₂Si), 20.6 (OCH₂CH₂CH₂CH₂Si), 33.4 (OCH₂CH₂CH₂CH₂Si), 67.8 (OCH₂CH₂CH₂CH₂Si), 93.7 (C₆H₃O₃; C-H), 132.7 (SiCHCH₂), 137.3 (SiCHCH₂), 161.0 (C₆H₃O₃; C-O).

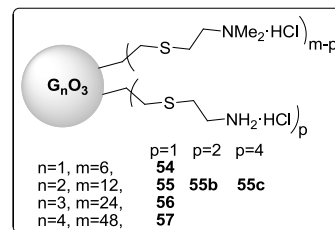
G₄O₃(S-NH₃⁺Cl⁻)V₄₇ (53)

Datos: **22** (0.216 g, 0.04 mmol), hidrocloreuro de cisteamina (0.005 g, 0.04 mmol) y DMPA (0.001 g, 4.08 μmol). Aceite amarillento viscoso (0.194 g, 88%).

RMN-¹H (CDCl₃): δ -0.11 (s, 63 H, SiMe), 0.11 (s, 72 H, SiMeC₂H₃), 0.52 (m, 126 H, OCH₂CH₂CH₂CH₂Si y SiCH₂CH₂CH₂Si), 0.67 (m, 48 H, CH₂SiC₂H₃), 1.31 (m, 60 H, OCH₂CH₂CH₂CH₂Si y SiCH₂CH₂CH₂Si), 1.74 (m, 6 H, OCH₂CH₂CH₂CH₂Si), 3.87 (t, J = 6.6 Hz, 6 H, OCH₂CH₂CH₂CH₂Si), 5.66 (m, 48 H, SiCHCH₂), 6.04 (m, 99 H, SiCHCH₂ y C₆H₃O₃). RMN-¹³C{¹H} (CDCl₃): δ de -5.3 a -5.0 (SiCH₃), 13.7 (OCH₂CH₂CH₂CH₂Si), 18.2–19.0 (SiCH₂CH₂CH₂Si), 20.5 (OCH₂CH₂CH₂CH₂Si), 33.2 (OCH₂CH₂CH₂CH₂Si),

67.6 (OCH₂CH₂CH₂CH₂Si), 93.7 (C₆H₃O₃; C-H), 132.6 (SiCHCH₂), 137.1 (SiCHCH₂), 160.9 (C₆H₃O₃; C-O).

4.5.2.11 Dendrímeros heterofuncionalizados con grupos -NMe₃⁺ y -NH₃⁺ obtenidos por hidrotiolación (54-57)



Método sintético 6b.

G₁O₃(S-NH₂·HCl)(S-NMe₂·HCl)₅ (54)

Datos: Paso 1: **19** (0.489 g, 0.70 mmol), hidrocloreuro de cisteamina (0.075 g, 0.70 mmol), DMPA (0.018 g, 0.07 mmol); paso 2: hidrocloreuro de 2-(dimetilamino)etanotiol (0.497 g, 3.51 mmol) y DMPA (0.090 g, 0.35 mmol). Sólido blanco (0.660 g, 67 %).

RMN-¹H (DMSO-d₆): δ -0.06 (s, 9 H, SiMe), 0.54 (m, 6 H, OCH₂CH₂CH₂CH₂Si), 0.82 (m, 12 H, SiCH₂CH₂S), 1.40 (m, 6 H, OCH₂CH₂CH₂CH₂Si), 1.66 (m, 6 H, OCH₂CH₂CH₂CH₂Si), 2.55 (m, 12 H, SiCH₂CH₂S), 2.72 (s, 30 H, SCH₂CH₂NMe₂H⁺), 2.90 (m, 12 H, SCH₂CH₂N⁺), 3.19 (m, 12 H, SCH₂CH₂N⁺), 3.90 (m, 6 H, OCH₂), 4.15 (sa, 3 H, -NH₃⁺), 6.03 (s, 3 H, C₆H₃O₃), 10.71 (sa, 5 H, -NMe₂H⁺). RMN-¹³C{¹H} (DMSO-d₆): δ -4.8 (SiCH₃), 13.2 (OCH₂CH₂CH₂CH₂Si), 14.4 (SiCH₂CH₂S), 20.2 (OCH₂CH₂CH₂CH₂Si), 25.0 (SCH₂CH₂N⁺), 26.7 (CH₂SC₂H₄NH₃⁺), 26.9 (CH₂SC₂H₄NR₂H⁺), 28.1 (SCH₂CH₂NH₃⁺), 33.0 (OCH₂CH₂CH₂CH₂Si), 38.9 (SCH₂CH₂NH₃⁺), 42.3 (-NMe₂H⁺), 56.2 (SCH₂CH₂NMe₂H⁺), 67.5 (OCH₂), 94.1 (C₆H₃O₃; C-H), 161.0 (C₆H₃O₃; C-O). RMN-¹⁵N (DMSO-d₆): δ -338.3 (-NMe₂H⁺). RMN-²⁹Si (DMSO-d₆): δ 3.1 (G₁-SiMe). Anal. Calcd. C₅₅H₁₂₂Cl₆N₆O₃S₆Si₃ (1404.96 g/mol): C, 47.02; H, 8.75; N, 5.98; S, 13.69; Exp.: C, 46.22; H, 8.42; N, 5.60; S, 14.06.

G₂O₃(S-NH₂·HCl)(S-NMe₂·HCl)₁₁ (55a)

Datos: Paso 1: **20** (0.159 g, 0.13 mmol), hidrocloreto de cisteamina (0.014 g, 0.13 mmol) y DMPA (0.006 g, 0.02 mmol); paso 2: hidrocloreto de 2-(dimetilamino)etanotiol (0.250 g, 1.68 mmol) y DMPA (0.037 g, 0.14 mmol). Sólido blanco (0.261 g, 70 %).

RMN-¹H (DMSO-d₆): δ -0.07 (s, 9 H, SiMe), 0.01 (s, 18 H, SiMe), 0.58 (m, 30 H SiCH₂CH₂CH₂Si y OCH₂CH₂CH₂CH₂Si), 0.86 (m, 24 H, SiCH₂CH₂S), 1.29 (m, 18 H SiCH₂CH₂CH₂Si y OCH₂CH₂CH₂CH₂Si), 1.67 (m, 6 H, OCH₂CH₂CH₂CH₂Si), 2.60 (m, 24 H, SiCH₂CH₂S), 2.73 (s, 66 H, SCH₂CH₂NMe₂H⁺), 2.87 (m, 24 H, SCH₂CH₂N⁺), 3.20 (m, 24 H, SCH₂CH₂N⁺), 3.88 (m, 6 H, -OCH₂), 4.12 (sa, 3 H, -NH₃⁺), 6.01 (s, 3 H, C₆H₃O₃), 10.68 (sa, 11 H, -NMe₂H⁺). RMN-¹³C{¹H} (DMSO-d₆): δ -5.7 y -5.4 (SiCH₃), 12.8 (OCH₂CH₂CH₂CH₂Si), 13.6 (SiCH₂CH₂S), 17.2–17.6 (SiCH₂CH₂CH₂Si), 19.6 (OCH₂CH₂CH₂CH₂Si), 24.2 (SCH₂CH₂N⁺), 25.8 (SiCH₂CH₂S), 32.1 (OCH₂CH₂CH₂CH₂Si), 41.3 (-NMe₂H⁺), 55.3 (SCH₂CH₂N⁺), 66.6 (OCH₂), 93.1 (C₆H₃O₃; C-H), 160.0 (C₆H₃O₃; C-O). RMN-¹⁵N (DMSO-d₆): δ -338.3 (-NMe₂H⁺). RMN-²⁹Si (DMSO-d₆): δ 1.7 (G₁-SiMe), 2.4 (G₂-SiMe). Anal. Calcd. C₁₁₅H₂₆₆Cl₁₂N₁₂O₃S₁₂Si₉ (2928.41 g/mol): C, 47.17; H, 9.16; N, 5.74; S, 13.14; Exp.: C, 46.23; H, 8.54; N, 5.15; S, 12.06.

G₂O₃(S-NH₂·HCl)₂(S-NMe₂·HCl)₁₀ (55b)

Datos: Paso 1: **20** (0.245 g, 0.20 mmol), hidrocloreto de cisteamina (0.043 g, 0.40 mmol) y DMPA (0.012 g, 0.04 mmol); paso 2: hidrocloreto de 2-(dimetilamino)etanotiol (0.313 g, 2.10 mmol) y DMPA (0.053 g, 0.20 mmol). Sólido blanco (0.435 g, 75 %).

RMN-¹H (DMSO-d₆): δ -0.07 (s, 9 H, SiMe), 0.01 (s, 18 H, SiMe), 0.58 (m, 30 H SiCH₂CH₂CH₂Si y OCH₂CH₂CH₂CH₂Si), 0.86 (m, 24 H, SiCH₂CH₂S), 1.29 (m, 18 H SiCH₂CH₂CH₂Si y OCH₂CH₂CH₂CH₂Si), 1.67 (m, 6 H, OCH₂CH₂CH₂CH₂Si), 2.60 (m, 24 H, SiCH₂CH₂S), 2.73 (s, 66 H, SCH₂CH₂NMe₂H⁺), 2.87 (m, 24 H, SCH₂CH₂N⁺), 3.20 (m, 24 H, SCH₂CH₂N⁺), 3.88 (m, 6 H, -OCH₂), 4.12 (sa, 6 H, -NH₃⁺), 6.01 (s, 3 H, C₆H₃O₃), 10.68 (sa, 10

H, $-NMe_2H^+$). RMN- $^{13}C\{^1H\}$ (DMSO- d_6): δ -5.7 y -5.4 (SiCH₃), 12.8 (OCH₂CH₂CH₂CH₂Si), 13.6 (SiCH₂CH₂S), 17.2–17.6 (SiCH₂CH₂CH₂Si), 19.6 (OCH₂CH₂CH₂CH₂Si), 24.2 (SCH₂CH₂N⁺), 25.8 (SiCH₂CH₂S), 32.1 (OCH₂CH₂CH₂CH₂Si), 41.3 ($-NMe_2H^+$), 55.3 (SCH₂CH₂N⁺), 66.6 (OCH₂), 93.1 (C₆H₃O₃; C-H), 160.0 (C₆H₃O₃; C-O). RMN- ^{15}N (DMSO- d_6): δ -338.3 ($-NMe_2H^+$). RMN- ^{29}Si (DMSO- d_6): δ 1.7 (G₁-SiMe), 2.4 (G₂-SiMe). Anal. Calcd. C₁₁₃H₂₆₂Cl₁₂N₁₂O₃S₁₂Si₉ (2900.35 g/mol): C, 46.79; H, 9.11; N, 5.80; S, 13.27; Exp.: C, 46.25; H, 9.04; N, 5.35; S, 12.37.

G₂O₃(S-NH₂·HCl)₄(S-NMe₂·HCl)₈ (55c)

Datos: Paso 1: **20** (0.300 g, 0.24 mmol), hidrocloreto de cisteamina (0.103 g, 0.96 mmol) y DMPA (0.030 g, 0.10 mmol); paso 2: hidrocloreto de 2-(dimetilamino)etanotiol (0.300 g, 2.02 mmol) y DMPA (0.051 g, 0.19 mmol). Sólido blanco (0.648 g, 76 %).

RMN- 1H (DMSO- d_6): δ -0.06 (s, 9 H, SiMe), 0.02 (s, 18 H, SiMe), 0.59 (m, 30 H SiCH₂CH₂CH₂Si y OCH₂CH₂CH₂CH₂Si), 0.87 (m, 24 H, SiCH₂CH₂S), 1.30 (m, 18 H SiCH₂CH₂CH₂Si y OCH₂CH₂CH₂CH₂Si), 1.68 (m, 6 H, OCH₂CH₂CH₂CH₂Si), 2.61 (m, 24 H, SiCH₂CH₂S), 2.74 (s, 66 H, SCH₂CH₂NMe₂H⁺), 2.88 (m, 24 H, SCH₂CH₂N⁺), 3.19 (m, 24 H, SCH₂CH₂N⁺), 3.87 (m, 6 H, -OCH₂), 4.11 (sa, 12 H, -NH₃⁺), 6.00 (s, 3 H, C₆H₃O₃), 10.67 (sa, 8 H, $-NMe_2H^+$). RMN- $^{13}C\{^1H\}$ (DMSO): δ -5.7 y -5.4 (SiCH₃), 12.8 (OCH₂CH₂CH₂CH₂Si), 13.6 (SiCH₂CH₂S), 17.2–17.6 (SiCH₂CH₂CH₂Si), 19.6 (OCH₂CH₂CH₂CH₂Si), 24.2 (SCH₂CH₂N⁺), 25.8 (SiCH₂CH₂S), 32.1 (OCH₂CH₂CH₂CH₂Si), 41.3 ($-NMe_2H^+$), 55.3 (SCH₂CH₂N⁺), 66.6 (OCH₂), 93.1 (C₆H₃O₃; C-H), 160.0 (C₆H₃O₃; C-O). RMN- ^{15}N (DMSO- d_6): δ -338.3 ($-NMe_2H^+$). RMN- ^{29}Si (DMSO- d_6): δ 1.7 (G₁-SiMe), 2.4 (G₂-SiMe). Anal. Calcd. C₁₀₉H₂₅₄Cl₁₂N₁₂O₃S₁₂Si₉ (2844.25 g/mol): C, 46.03; H, 9.00; N, 5.91; S, 13.53; Exp.: C, 45.11; H, 9.10; N, 6.04; S, 11.96.

G₃O₃(S-NH₂·HCl)(S-NMe₂·HCl)₂₃ (56)

Datos: Paso 1: **21** (0.324 g, 0.12 mmol), hidrocloreto de cisteamina 0.014 g, 0.12 mmol), y DMPA (0.003 g, 0.01 mmol); paso 2: hidrocloreto de 2-

(dimetilamino)etanotiol (0.405 g, 2.86 mmol) y DMPA (0.073 g, 0.28 mmol). Sólido blanco (0.466 g, 71 %).

RMN-¹H (DMSO-d₆): δ -0.09 (s, 27 H, SiMe), 0.02 (s, 36 H, SiMe), 0.57 (m, 78 H SiCH₂CH₂CH₂Si y OCH₂CH₂CH₂CH₂Si), 0.87 (m, 48 H, SiCH₂CH₂S), 1.29 (m, 42 H SiCH₂CH₂CH₂Si y OCH₂CH₂CH₂CH₂Si), 1.66 (m, 6 H, OCH₂CH₂CH₂CH₂Si), 2.56 (m, 48 H, SiCH₂CH₂S), 2.74 (s, 138 H, -NMe₂H⁺), 2.88 (m, 48 H, SCH₂CH₂NMe₂H⁺), 3.21 (m, 48 H, SCH₂CH₂NMe₂H⁺), 3.82 (m, 6 H, OCH₂), 5.96 (s, 3 H, C₆H₃O₃), 10.69 (sa, 23 H, -NMe₂H⁺). RMN-¹³C{¹H} (DMSO-d₆): δ -5.7 y -5.2 (SiCH₃), 12.8 (OCH₂CH₂CH₂CH₂Si), 13.6 (SiCH₂CH₂S), 17.3–17.8 (SiCH₂CH₂CH₂Si), 24.2 (SCH₂CH₂NMe₂H⁺), 26.0 (SiCH₂CH₂S), 41.3 (SiCH₂CH₂NMe₂H⁺), 55.2 (SCH₂CH₂NMe₂H⁺). RMN-¹⁵N (DMSO-d₆): -339.1 (-NMe₂H⁺). RMN-²⁹Si (DMSO-d₆): δ 1.0 (G₂-SiMe), 2.4 (G₃-SiMe). Anal. Calcd. C₂₃₅H₅₅₄Cl₂₄N₂₄O₃S₂₄Si₂₁ (5975.30 g/mol): C, 47.24; H, 9.35; N, 5.63; S, 12.88; Exp.: C, 46.54; H, 9.76; N, 5.16; S, 12.18.

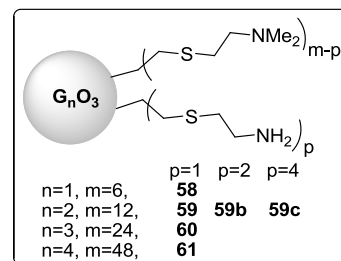
G₄O₃(S-NH₂·HCl)(S-NMe₂·HCl)₄₇ (57)

Datos: Paso 1: **22** (0.216 g, 0.04 mmol), hidrocloreto de cisteamina (0.103 g, 0.96 mmol) y DMPA (0.001 g, 4.08 μmol); paso 2: hidrocloreto de 2-(dimetilamino)etanotiol (0.264 g, 1.86 mmol) y DMPA (0.044 g, 0.17 mmol). Sólido blanco (0.321 g, 75 %).

RMN-¹H (DMSO-d₆): δ -0.10 (s, 63 H, SiMe), 0.01 (s, 72 H, SiMe), 0.56 (m, 174 H SiCH₂CH₂CH₂Si y OCH₂CH₂CH₂CH₂Si), 0.85 (t, J=8.6 Hz, 96 H, SiCH₂CH₂S), 1.29 (m, 84 H, SiCH₂CH₂CH₂Si y OCH₂CH₂CH₂CH₂Si), 1.64 (m, 6 H, OCH₂CH₂CH₂CH₂Si), 2.59 (m, 96 H, SiCH₂CH₂S), 2.73 (s, 288 H, SCH₂CH₂NMe₂), 2.88 (m, 96 H, SCH₂CH₂NMe₂), 3.22 (m, 96 H, SCH₂CH₂NMe₂), 3.89 (m, 6 H, OCH₂), 6.01 (s, 3 H, C₆H₃O₃). RMN-¹³C{¹H} (DMSO-d₆): δ de -5.7 a -5.3 (SiCH₃), 12.8 (OCH₂CH₂CH₂CH₂Si), 13.6 (SiCH₂CH₂S), 16.9–17.8 (SiCH₂CH₂CH₂Si), 19.5 (OCH₂CH₂CH₂CH₂Si), 24.2 (SiCH₂CH₂S), 26.0 (SCH₂CH₂NMe₂), 32.1 (OCH₂CH₂CH₂CH₂Si), 41.4 (SiCH₂CH₂NMe₂), 55.3 (SCH₂CH₂NMe₂), 66.5 (OCH₂), 93.1 (C₆H₃O₃; C-H), 160.0 (C₆H₃O₃; C-O). RMN-¹⁵N (DMSO-d₆): -339.1 (-NMe₂H⁺). RMN-²⁹Si

(DMSO- d_6): δ 1.0 (G_3 -SiMe), 2.4 (G_4 -SiMe). Anal. Calc. $C_{475}H_{1130}Cl_{48}N_{48}O_3S_{48}Si_{45}$ (12069.09 g/mol): C, 47.27; H, 9.44; N, 5.57; S, 12.75; Exp.: C, 47.0; H, 9.24; N, 4.82; S, 14.61.

4.5.2.12 Dendrímeros heterofuncionalizados con grupos -NMe₂ y -NH₂ obtenidos por hidrotiolación (58-61)



Método sintético 7.

$G_1O_3(S-NH_2)(S-NMe_2)_5$ (58)

Datos: **54** (0.310 g, 0.22 mmol), NaOH (0.063 g, 1.58 mmol). Aceite amarillento viscoso (0.261 g, 100 %).

RMN-¹H (CDCl₃): δ 0.02 (s, 9 H, SiMe), 0.58 (m, 6 H, OCH₂CH₂CH₂CH₂Si), 0.91 (m, 12 H, SiCH₂CH₂S), 1.43 (m, 6 H, OCH₂CH₂CH₂CH₂Si), 1.75 (m, 6 H, OCH₂CH₂CH₂CH₂Si), 2.23 (s, 30 H, SCH₂CH₂NMe₂), 2.49 (m, 12 H, SCH₂CH₂N), 2.52 (m, 12 H, SiCH₂CH₂S), 2.59 (m, 10 H, SCH₂CH₂NMe₂), 2.82 (m, 2 H, SCH₂CH₂NH₂), 3.88 (m, 6 H, OCH₂), 6.03 (s, 3 H, C₆H₃O₃). RMN-¹³C{¹H} (CDCl₃): δ -5.3 (SiCH₃), 13.4 (OCH₂CH₂CH₂CH₂Si), 14.6 (SiCH₂CH₂S), 20.4 (OCH₂CH₂CH₂CH₂Si), 27.2 (CH₂SCH₂CH₂NH₂), 27.7 (SiCH₂CH₂S), 29.9 (SCH₂CH₂N), 33.1 (OCH₂CH₂CH₂CH₂Si), 36.3 (SCH₂CH₂NH₂), 41.2 (SCH₂CH₂NH₂), 45.4 (SiCH₂CH₂NMe₂), 59.3 (SCH₂CH₂NMe₂), 67.4 (OCH₂), 93.8 (C₆H₃O₃; C-H), 160.9 (C₆H₃O₃; C-O). RMN-¹⁵N (CDCl₃): δ -352.1 (-NMe₂). RMN-²⁹Si (CDCl₃): δ 2.4 (G_1 -SiMe). Anal. Calcd. $C_{55}H_{116}N_6O_3S_6Si_3$ (1186.19 g/mol): C, 55.69; H, 9.86; N, 7.08; S, 16.22; Exp.: C, 54.98; H, 9.39; N, 6.97; S, 16.70.

$G_2O_3(S-NH_2)(S-NMe_2)_{11}$ (59a)

Datos: **55** (0.226 g, 0.08 mmol), NaOH (0.044 g, 1.11 mmol). Aceite amarillento viscoso (0.180 g, 94 %).

RMN-¹H (CDCl₃): δ -0.07 (s, 9 H, SiMe), 0.00 (s, 18 H, SiMe), 0.57 (m, 30 H SiCH₂CH₂CH₂Si y OCH₂CH₂CH₂CH₂Si), 0.89 (m, 24 H, SiCH₂CH₂S), 1.28 (m, 12 H SiCH₂CH₂CH₂Si), 1.40 (m, 6 H, OCH₂CH₂CH₂CH₂Si), 1.64 (m, 6 H, OCH₂CH₂CH₂CH₂Si), 2.22 (s, 72 H, SCH₂CH₂NMe₂), 2.47 (m, 24 H, SCH₂CH₂N), 2.51 (m, 24 H, SiCH₂CH₂S), 2.56 (m, 22 H, SCH₂CH₂N), 3.84 (m, 6 H, OCH₂), 6.02 (s, 3 H, C₆H₃O₃). RMN-¹³C{¹H} (CDCl₃): δ -5.4 (SiCH₃), -5.2 (SiCH₃), 13.2 (OCH₂CH₂CH₂CH₂Si), 14.5 (SiCH₂CH₂S), 18.3–18.7 (SiCH₂CH₂CH₂Si), 20.5 (OCH₂CH₂CH₂CH₂Si), 27.7 (SiCH₂CH₂S), 29.6 (SCH₂CH₂N), 33.0 (OCH₂CH₂CH₂CH₂Si), 45.2 (-NMe₂), 59.1 (SCH₂CH₂N), 68.0 (OCH₂), 93.7 (C₆H₃O₃; C-H), 160.8 (C₆H₃O₃; C-O). RMN-¹⁵N (CDCl₃): δ -352.1 (-NMe₂). RMN-²⁹Si (CDCl₃): δ 1.6 (G₁-SiMe), 2.0 (G₂-SiMe). Anal. Calcd. C₁₁₅H₂₅₄N₁₂O₃Si₁₂Si₉ (2490.88 g/mol): C, 55.45; H, 10.28; N, 6.75; S, 15.45; Exp.: C, 55.19; H, 9.57; N, 6.28; S, 13.99.

G₂O₃(S-NH₂)₂(S-NMe₂)₁₀ (59b)

Datos: **55b** (0.536 g, 0.18 mmol), NaOH (0.104 g, 2.59 mmol). Aceite amarillento viscoso (0.399 g, 90 %).

RMN-¹H (CDCl₃): δ -0.06 (s, 9 H, SiMe), 0.01 (s, 18 H, SiMe), 0.58 (m, 30 H SiCH₂CH₂CH₂Si y OCH₂CH₂CH₂CH₂Si), 0.90 (m, 24 H, SiCH₂CH₂S), 1.29 (m, 12 H SiCH₂CH₂CH₂Si), 1.41 (m, 6 H, OCH₂CH₂CH₂CH₂Si), 1.65 (m, 6 H, OCH₂CH₂CH₂CH₂Si), 2.21 (s, 72 H, -NMe₂), 2.46 (m, 24 H, SCH₂CH₂N), 2.50 (m, 24 H, SiCH₂CH₂S), 2.55 (m, 20 H, SCH₂CH₂N), 2.82 (m, 4 H, SCH₂CH₂NH₂), 3.84 (m, 6 H, OCH₂), 6.03 (s, 3 H, C₆H₃O₃). RMN-¹³C{¹H} (CDCl₃): δ -5.4 (SiCH₃), 13.3 (OCH₂CH₂CH₂CH₂Si), 14.5 (SiCH₂CH₂S), 18.3–18.7 (SiCH₂CH₂CH₂Si), 20.3 (OCH₂CH₂CH₂CH₂Si), 27.1 (CH₂SCH₂CH₂NH₂), 27.6 (SiCH₂CH₂S), 29.8 (SCH₂CH₂NMe₂), 33.0 (OCH₂CH₂CH₂CH₂Si), 36.2 (SCH₂CH₂NH₂), 41.1 (SCH₂CH₂NH₂), 45.3 (SiCH₂CH₂NMe₂), 59.2 (SCH₂CH₂NMe₂), 67.3 (OCH₂), 93.8 (C₆H₃O₃; C-H), 160.9 (C₆H₃O₃; C-O). RMN-¹⁵N (CDCl₃): δ -352.2 (-NMe₂). RMN-²⁹Si (CDCl₃): δ 1.7 (G₁-SiMe), 2.1 (G₂-SiMe).

G₂O₃(S-NH₂)₄(S-NMe₂)₈ (59c)

Datos: **55c** (0.542 g, 0.19 mmol), NaOH (0.110 g, 2.74 mmol). Aceite amarillento viscoso (0.439 g, 96 %).

RMN-¹H (CDCl₃): δ -0.06 (s, 9 H, SiMe), 0.01 (s, 18 H, SiMe), 0.58 (m, 30 H SiCH₂CH₂CH₂Si y OCH₂CH₂CH₂CH₂Si), 0.90 (m, 24 H, SiCH₂CH₂S), 1.29 (m, 12 H SiCH₂CH₂CH₂Si), 1.42 (m, 6 H, OCH₂CH₂CH₂CH₂Si), 1.66 (m, 6 H, OCH₂CH₂CH₂CH₂Si), 2.22 (s, 72 H, SCH₂CH₂NMe₂), 2.47 (m, 24 H, SCH₂CH₂NMe₂), 2.51 (m, 24 H, SiCH₂CH₂S), 2.56 (m, 16 H, SCH₂CH₂NMe₂), 2.83 (m, 8 H, SCH₂CH₂NH₂), 3.85 (m, 6 H, OCH₂), 6.04 (s, 3 H, C₆H₃O₃). RMN-¹³C{¹H} (CDCl₃): δ -5.5 (SiCH₃), 13.2 (OCH₂CH₂CH₂CH₂Si), 14.4 (SiCH₂CH₂S), 18.3–18.7 (SiCH₂CH₂CH₂Si), 20.2 (OCH₂CH₂CH₂CH₂Si), 27.0 (CH₂SCH₂CH₂NH₂), 27.5 (SiCH₂CH₂S), 29.7 (SCH₂CH₂NMe₂), 32.9 (OCH₂CH₂CH₂CH₂Si), 36.1 (SCH₂CH₂NH₂), 41.0 (SCH₂CH₂NH₂), 45.2 (SiCH₂CH₂NMe₂), 59.1 (SCH₂CH₂NMe₂), 67.2 (OCH₂), 93.7 (C₆H₃O₃; C-H), 160.8 (C₆H₃O₃; C-O). RMN-¹⁵N (CDCl₃): δ -358.8 (-NH₂), -353.0 (-NMe₂). RMN-²⁹Si (CDCl₃): δ 1.7 (G₁-SiMe), 2.0 (G₂-SiMe). Anal. Calcd. C₁₀₉H₂₄₂N₁₂O₃S₁₂Si₉ (2406.72 g/mol): C, 54.40; H, 10.14; N, 6.98; S, 15.99; Exp.: C, 53.62; H, 10.85; N, 5.97; S, 14.86.

G₃O₃(S-NH₂)(S-NMe₂)₂₃ (60)

Datos: **56** (0.536 g, 0.09 mmol), NaOH (0.103 g, 2.58 mmol). Aceite amarillento viscoso (0.427 g, 93 %).

RMN-¹H (CDCl₃): δ -0.11 (s, 27 H, SiMe), -0.01 (s, 36 H, SiMe), 0.52 (m, 78 H SiCH₂CH₂CH₂Si y OCH₂CH₂CH₂CH₂Si), 0.88 (m, 48 H, SiCH₂CH₂S), 1.27 (m, 36 H SiCH₂CH₂CH₂Si), 1.39 (m, 6 H, OCH₂CH₂CH₂CH₂Si), 1.70 (m, 6 H, OCH₂CH₂CH₂CH₂Si), 2.23 (s, 144 H, SCH₂CH₂NMe₂), 2.48 (m, 48 H, SCH₂CH₂NMe₂), 2.54 (m, 48 H, SiCH₂CH₂S), 2.60 (m, 46 H, SCH₂CH₂NMe₂), 3.85 (t, J = 6.3 Hz, 6 H, OCH₂), 6.03 (s, 3 H, C₆H₃O₃). RMN-¹³C{¹H} (CDCl₃): δ -5.2 (SiCH₃), -5.1 (SiCH₃), 13.4 (OCH₂CH₂CH₂CH₂Si), 14.7 (SiCH₂CH₂S), 18.6 – 18.9 (SiCH₂CH₂CH₂Si), 20.6 (OCH₂CH₂CH₂CH₂Si), 27.8 (SiCH₂CH₂S), 29.9 (SCH₂CH₂NMe₂), 33.1 (OCH₂CH₂CH₂CH₂Si), 45.5 (SiCH₂CH₂NMe₂), 59.4

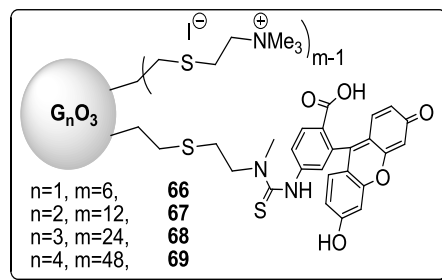
(SCH₂CH₂NMe₂), 68.1 (OCH₂), 93.8 (C₆H₃O₃; C-H), 160.9 (C₆H₃O₃; C-O). RMN-¹⁵N (CDCl₃): δ -352.0 (-NMe₂). RMN-²⁹Si (CDCl₃): δ 0.9 (G₂-SiMe), 2.0 (G₃-SiMe). Anal. Calcd. C₂₃₅H₅₃₀N₂₄O₃S₂₄Si₂₁ (5100.24 g/mol): C, 55.34; H, 10.47; N, 6.59; S, 15.09; Exp.: C, 54.68; H, 10.17; N, 6.76; S, 14.00.

G₄O₃(S-NH₂)(S-NMe₂)₄₇ (61)

Datos: **57** (0.321 g, 0.03 mmol), NaOH (0.061 g, 1.52 mmol). Aceite amarillento viscoso (0.274 g, 100 %).

RMN-¹H (CDCl₃): δ -0.09 (s, 63 H, SiMe), 0.00 (s, 72 H, SiMe), 0.58 (m, 174 H SiCH₂CH₂CH₂Si y OCH₂CH₂CH₂CH₂Si), 0.88 (t, J = 8.6 Hz, 96 H, SiCH₂CH₂S), 1.28 (m, 84 H, SiCH₂CH₂CH₂Si), 1.39 (m, 6 H, OCH₂CH₂CH₂CH₂Si), 1.70 (m, 6 H, OCH₂CH₂CH₂CH₂Si), 2.24 (s, 288 H, SCH₂CH₂NMe₂), 2.51 (m, 96 H, SCH₂CH₂NMe₂), 2.56 (m, 96 H, SiCH₂CH₂S), 2.61 (m, 94 H, SCH₂CH₂NMe₂), 3.85 (m, 6 H, OCH₂), 6.03 (s, 3 H, C₆H₃O₃). RMN-¹³C{¹H} (CDCl₃): δ -5.0 (SiCH₃), 13.3 (OCH₂CH₂CH₂CH₂Si), 14.6 (SiCH₂CH₂S), 18.5–18.8 (SiCH₂CH₂CH₂Si), 20.5 (OCH₂CH₂CH₂CH₂Si), 27.8 (SiCH₂CH₂S), 29.9 (SCH₂CH₂NMe₂), 33.1 (OCH₂CH₂CH₂CH₂Si), 45.5 (SCH₂CH₂NMe₂), 59.3 (SCH₂CH₂NMe₂), 68.1 (OCH₂), 93.8 (C₆H₃O₃; C-H), 160.9 (C₆H₃O₃; C-O). RMN-¹⁵N (CDCl₃): δ -352.1 (-NMe₂). RMN-²⁹Si (CDCl₃): δ 1.7 (G₄-SiMe), 1.0 (G₃-SiMe y G₂-SiMe). Anal. Calc. C₄₇₅H₁₀₈₂N₄₈O₃S₄₈Si₄₅ (10318.96 g/mol): C, 55.29; H, 10.57; N, 6.52; S, 14.92; Exp.: C, 56.23; H, 11.18; N, 5.82; S, 12.18.

4.5.2.13 Dendrímeros heterofuncionalizados con grupos NMe_3^+ y un grupo fluoresceína obtenidos por hidrotiolación (66-69)



Método sintético 8.

$\text{G}_1\text{O}_3(\text{NMeFITC})(\text{S-NMe}_3^+\text{I}^-)_5$ (66)

Datos: Paso 1: **58** (0.190 g, 0.16 mmol) y FITC (0.066 g, 0.17 mmol); paso 2: MeI (0.05 ml, 0.80 mmol). Sólido anaranjado (0.302 g, 82 %).

RMN- ^1H (DMSO- d_6): δ 0.05 (s, 9 H, SiMe), 0.63 (m, 6 H, $\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{Si}$), 0.88 (m, 12 H, $\text{SiCH}_2\text{CH}_2\text{S}$), 1.40 (m, 6 H, $\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{Si}$), 1.69 (m, 6 H, $\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{Si}$), 2.42 (sa, 1 H, $\text{SC}_2\text{H}_4\text{NHCS}$), 2.64 (m, 12 H, $\text{SiCH}_2\text{CH}_2\text{S}$), 2.80 (s, 3 H, $-\text{NHC}(\text{S})\text{NMe}-$), 2.90 (m, 12 H, $\text{SCH}_2\text{CH}_2\text{N}^+$), 3.10 (s, 45 H, $-\text{NMe}_3^+$), 3.54 (m, 12 H, $\text{SCH}_2\text{CH}_2\text{N}^+$), 3.89 (t, 6 H, OCH_2), 6.03 (s, 3 H, $\text{C}_6\text{H}_3\text{O}_3$), 6.55 y 6.67 (sa, 8 H, $\text{C}_{\text{ar}(\text{fq})}\text{-H}$), 7.00-8.50 ($\text{C}_{\text{ar}(\text{fl})}\text{-H}$). RMN- $^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ (DMSO- d_6): δ -5.7 (SiCH_3), 12.3 ($\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{Si}$), 13.5 ($\text{SiCH}_2\text{CH}_2\text{S}$), 19.3 ($\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{Si}$), 23.0 ($\text{SCH}_2\text{CH}_2\text{NMe}_3^+$), 26.3 ($\text{SiCH}_2\text{CH}_2\text{S}$), 32.0 ($\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{Si}$), 41.8 ($-\text{NHC}(\text{S})\text{NMe}-$), 51.7 ($-\text{NMe}_3^+$), 64.0 ($\text{SCH}_2\text{CH}_2\text{N}^+$), 66.7 (OCH_2), 93.1 ($\text{C}_6\text{H}_3\text{O}_3$; C-H), 101.8, 112.1, 128.5, 151.4 y 158.9 ($\text{C}_{\text{ar}}\text{-H}$), 160.0 ($\text{C}_6\text{H}_3\text{O}_3$; C-O). RMN- ^{15}N (DMSO- d_6): δ -329.9 ($-\text{NMe}_3^+$). RMN- ^{29}Si (DMSO- d_6): δ 3.3 ($\text{G}_1\text{-SiMe}$). IR (KBr, cm^{-1}): 1752, $\nu(\text{C}=\text{O})$. UV-Vis (H_2O): 226.2, 277.2 y 489.5. Anal. Calcd. $\text{C}_{82}\text{H}_{144}\text{I}_5\text{N}_7\text{O}_8\text{Si}_3$ (2299.29 g/mol): C, 42.83; H, 6.31; N, 4.26; S, 9.76; Exp.: C, 41.51; H, 6.18; N, 4.03; S, 9.12.

$\text{G}_2\text{O}_3(\text{NMeFITC})(\text{S-NMe}_3^+\text{I}^-)_{11}$ (67)

Datos: Paso 1: **59** (0.182 g, 0.07 mmol) y FITC (0.036 g, 0.09 mmol); paso 2: MeI (0.06 ml, 0.96 mmol). Sólido anaranjado (0.261 g, 80 %).

RMN- ^1H (DMSO): δ -0.06 (s, 9 H, SiMe), 0.04 (s, 18 H, SiMe), 0.55 (m, 24 H, $\text{SiCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{Si}$), 0.64 (m, 6 H, $\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{Si}$), 0.86 (m, 24 H, $\text{SiCH}_2\text{CH}_2\text{S}$), 1.31 (m, 18 H, $\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{Si}$ y $\text{SiCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{Si}$), 1.72 (m,

6 H, OCH₂CH₂CH₂CH₂Si), 2.63 (m, 24 H, SiCH₂CH₂S), 2.89 (m, 24 H, SCH₂CH₂NMe₃⁺), 3.10 (s, 99 H, -NMe₃⁺), 3.55 (m, 24 H, SCH₂CH₂N⁺), 3.90 (t, 6 H, OCH₂), 6.01 (s, 3 H, C₆H₃O₃), 6.54 y 6.66 (sa, 8 H, C_{ar(fq)}-H). RMN-¹³C{¹H} (DMSO): δ -5.6 (SiCH₃), 11.8 (OCH₂CH₂CH₂CH₂Si), 13.6 (SiCH₂CH₂S), 17.3–19.6 (OCH₂CH₂CH₂CH₂Si y SiCH₂CH₂CH₂Si), 23.1 (SCH₂CH₂N⁺), 26.4 (SiCH₂CH₂S), 32.4 (OCH₂CH₂CH₂CH₂Si), 41.9 (-NHC(S)NMe-), 51.7 (-NMe₃⁺), 63.9 (SCH₂CH₂N⁺), 67.0 (OCH₂), 93.5 (C₆H₃O₃; C-H), 101.9, 112.2, 128.4, 151.3 y 158.8 (C_{ar}-H), 160.8 (C₆H₃O₃; C-O). RMN-¹⁵N (DMSO): δ -330.0 (-NMe₃⁺). RMN-²⁹Si (DMSO): δ 1.8 (G₁-SiMe), 2.5 (G₂-SiMe). IR (KBr, cm⁻¹): 1752, ν(C=O). UV-Vis (H₂O): 224.4, 265.4 y 500.0. Anal. Calcd. C₁₄₈H₃₀₀I₁₁N₁₃O₈S₁₃Si₉ (4455.61 g/mol): C, 39.90; H, 6.79; I, 31.33; N, 4.09; S, 9.36; Exp.: C, 39.15; H, 6.78; N, 3.98; S, 8.77.

G₃O₃(NMeFITC)(S-NMe₃⁺I⁻)₂₃ (68)

Datos: Paso 1: **60** (0.238 g, 0.04 mmol) y FITC (0.019 g, 0.05 mmol); paso 2: MeI (0.07 ml, 1.15 mmol). Sólido anaranjado (0.299 g, 87 %).

RMN-¹H (DMSO): δ -0.09 (s, 27 H, SiMe), 0.04 (s, 36 H, SiMe), 0.53 (m, 78 H, SiCH₂CH₂CH₂Si y OCH₂CH₂CH₂CH₂Si), 0.85 (m, 48 H, SiCH₂CH₂S), 1.25 (m, 42 H, OCH₂CH₂CH₂CH₂Si y SiCH₂CH₂CH₂Si), 1.68 (m, 6 H, OCH₂CH₂CH₂CH₂Si), 2.65 (m, 48 H, SiCH₂CH₂S), 2.91 (m, 48 H, SCH₂CH₂N⁺), 3.14 (s, 207 H, -NMe₃⁺), 3.59 (m, 48 H, SCH₂CH₂N⁺), 3.83 (m, 6 H, OCH₂), 6.02 (s, 3 H, C₆H₃O₃), 6.54 y 6.66 (sa, 8 H, C_{ar(fq)}-H). RMN-¹³C{¹H} (DMSO): δ de -6.0 a -5.4 (SiCH₃), 11.9 (OCH₂CH₂CH₂CH₂Si), 13.7 (SiCH₂CH₂S), 16.9–17.8 (OCH₂CH₂CH₂CH₂Si y SiCH₂CH₂CH₂Si), 23.2 (SCH₂CH₂N⁺), 26.4 (SiCH₂CH₂S), 31.3 (OCH₂CH₂CH₂CH₂Si), 51.7 (-NMe₃⁺), 64.0 (SCH₂CH₂N⁺), 66.0 (OCH₂), 91.9 (C₆H₃O₃; C-H), 160.7 (C₆H₃O₃; C-O). RMN-¹⁵N (DMSO): δ -330.0 (-NMe₃⁺). RMN-²⁹Si (DMSO): δ 0.9 (G₂-SiMe), 2.3 (G₃-SiMe₂). UV-Vis (H₂O): 501.4. Anal. Calcd. C₂₈₀H₆₁₂I₂₃N₂₅O₈S₂₅Si₂₁ (8768.23 g/mol): C, 38.35; H, 7.04; N, 3.99; S, 9.14; Exp.: C, 37.57; H, 6.90; N, 3.85; S, 8.48.

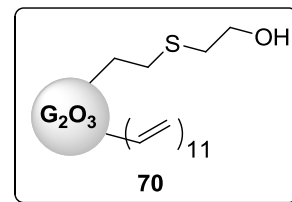
$G_4O_3(NMeFITC)(S-NMe_3^+I^-)_{47}$ (69)

Datos: Paso 1: **61** (0.274 g, 0.03 mmol) y FITC (0.011 g, 0.03 mmol); paso 2: MeI (0.09 ml, 1.50 mmol). Sólido anaranjado (0.384 g, 83 %).

RMN- 1H (DMSO): δ -0.09 (s, 63 H, *SiMe*), 0.05 (s, 72 H, *SiMe*), 0.53 (m, 180 H, $SiCH_2CH_2CH_2Si$ y $OCH_2CH_2CH_2CH_2Si$), 0.89 (m, 96 H, $SiCH_2CH_2S$), 1.28 (m, 90 H, $OCH_2CH_2CH_2CH_2Si$ y $SiCH_2CH_2CH_2Si$), 2.66 (m, 96 H, $SiCH_2CH_2S$), 2.93 (m, 96 H, $-SCH_2CH_2N^+$), 3.18 (s, 423 H, $--NMe_3^+$), 3.62 (m, 96 H, $-SCH_2CH_2N^+$), 3.89 (t, 6 H, $-OCH_2$), 6.02 (s, 3H, $C_6H_3O_3$), 6.55 y 6.67 (sa, 8 H, $C_{ar(fq)}-H$). RMN- $^{13}C\{^1H\}$ (DMSO): δ -5.4 ($SiCH_3$), 11.9 ($OCH_2CH_2CH_2CH_2Si$), 13.8 ($SiCH_2CH_2S$), 17.5 – 17.8 ($OCH_2CH_2CH_2CH_2Si$ y $SiCH_2CH_2CH_2Si$), 23.2 ($-SCH_2CH_2N^+$), 24.6 ($SiCH_2CH_2S$), 31.3 ($OCH_2CH_2CH_2CH_2Si$), 51.8 ($-NMe_3^+$), 64.0 ($-SCH_2CH_2N^+$), 66.1 ($-OCH_2-$), 92.0 ($C_6H_3O_3$; C-H). RMN- ^{29}Si (DMSO): δ 0.9 (G_3-SiMe), 2.3 (G_4-SiMe_2). RMN- ^{15}N (DMSO): δ -330.0 ($-SiCH_2-CH_2-NMe_3I$). IR (KBr, cm^{-1}): 1753, $\nu(C=O)$. UV-Vis (H_2O): 224.9, y 500.7. Anal. Calc. $C_{544}H_{1236}I_{48}N_{49}O_8S_{49}Si_{45}$ (17520.41 g/mol): C, 37.29; H, 7.11; N, 3.92; S, 8.97; Exp.: C, 37.24; H, 7.34; N, 4.00; S, 8.95.

4.5.2.14 Dendrímero heterofuncionalizado $G_2O_3(S-OH)V_{11}$ (70)

Método sintético 6b.

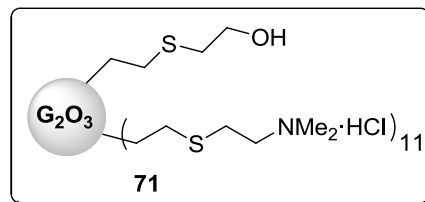


Datos: **20** (0.575 g, 0.46 mmol), 2-mercaptoetanol (0.03 ml, 0.46 mmol) y DMPA (0.012 g, 0.04 mmol). Aceite amarillento (0.611 g, 90 %).

RMN- 1H ($CDCl_3$): δ -0.10 (s, 9 H, OC_4H_8SiMe), -0.09 (s, 3 H, $SiMeC_2H_4S$), 0.05 (s, 15 H, $SiMeC_2H_3$), 0.54 (m, 18 H, $OCH_2CH_2CH_2CH_2SiCH_2$), 0.68 (t, $J_a = 8.1$ Hz, 12 H, $CH_2SiC_2H_3$), 0.89 (t, $J_b = 8.0$ Hz, 2 H, $SiCH_2CH_2S$), 1.33 (m, 18 H, $OCH_2CH_2CH_2CH_2Si$ y $SiCH_2CH_2CH_2Si$), 1.74 (m, 6 H, OCH_2CH_2), 2.52 (t, $J_b = 9.0$ Hz, 2 H, $SiCH_2CH_2S$), 2.71 (t, $J_c = 6.0$ Hz, 2 H, SCH_2CH_2O), 2.85 (m, 1 H, $-OH$), 3.68 (m, 2 H, SCH_2CH_2O), 3.87 (m, 6 H, $OCH_2CH_2CH_2$), 5.68 y 6.04 (m, 9 H,

SiCHCH₂ y C₆H₄). RMN-¹³C{¹H} (CDCl₃): δ -5.5, -5.2 y -5.1 (SiMe), 13.7 (OCH₂CH₂CH₂CH₂Si), 15.1 (SiCH₂CH₂S), 28.3-18.9 (SiCH₂CH₂CH₂Si), 20.5 (OCH₂CH₂CH₂), 27.1 (SiCH₂CH₂S), 33.1 (OCH₂CH₂CH₂), 35.1 (SCH₂CH₂O), 60.3 (SCH₂CH₂O), 67.6 (OCH₂CH₂CH₂), 93.7 (C₆H₄, C-H), 132.7 (SiCHCH₂), 137.1 (SiCHCH₂), 160.9 (C₆H₄, C-O).

4.5.2.15 Dendrímtero
heterofuncionalizado G₂O₃(S-OH)(S-
NMe₂·HCl)₁₁ (71)



Método sintético 6b.

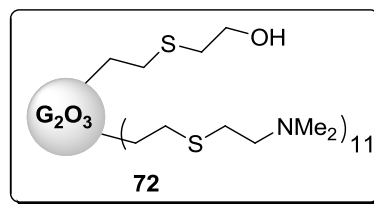
Datos: Paso 1: **20** (0.575 g, 0.46 mmol), 2-mercaptoetanol (0.03 ml, 0.46 mmol) y DMPA (0.012 g, 0.04 mmol); paso 2: hidrocloreto de 2-(dimetilamino)etanotiol (0.788 g, 5.28 mmol) y DMPA (0.129 g, 0.50 mmol). Sólido blanco (0.127 g, 82 %)

RMN-¹H (DMSO-d₆): δ -0.07 (s, 9 H, OC₄H₈SiMe), 0.01 (s, 18 H, SiMeC₂H₄S), 0.58 (m, 30 H, OCH₂CH₂CH₂CH₂SiCH₂ y CH₂SiC₂H₃), 0.85 (m, 24 H, SiCH₂CH₂S), 1.32 (m, 18 H, OCH₂CH₂CH₂CH₂Si y SiCH₂CH₂CH₂Si), 1.67 (m, 6 H, OCH₂CH₂CH₂), 2.57 (m, 24 H, SiCH₂CH₂S), 2.73 (s, 68 H, SCH₂CH₂O y -NMe₂H⁺), 2.87 (m, 22 H, SCH₂CH₂N⁺ y SCH₂CH₂O), 3.19 (m, 20 H, CH₂N⁺), 3.50 (m, 2 H, SCH₂CH₂O), 3.88 (m, 6 H, OCH₂CH₂CH₂), 6.01 (s, 3 H, C₆H₄). RMN-¹³C{¹H} (DMSO-d₆): δ -5.7 y -5.4 (SiMe), 12.7 (OCH₂CH₂CH₂CH₂Si), 13.5 (SiCH₂CH₂SC₂H₄N⁺), 13.8 (SiCH₂CH₂SC₂H₄O), 16.9-17.6 (SiCH₂CH₂CH₂Si), 19.5 (OCH₂CH₂CH₂), 24.3 (SiCH₂CH₂SC₂H₄N⁺), 26.0 (SCH₂CH₂N⁺), 26.4 (SiCH₂CH₂SC₂H₄O), 32.1 (OCH₂CH₂CH₂), 33.2 (SCH₂CH₂O), 41.4 (-NMe₂H⁺), 55.3 (CH₂N⁺), 60.4 (SCH₂CH₂O), 66.6 (OCH₂CH₂CH₂), 93.1 (C₆H₄, C-H), 160.0 (C₆H₄, C-O). Anal. Calc. C₁₁₅H₂₆₄Cl₁₁N₁₁O₄S₁₂Si₉ (2892.93 g/mol): C, 47.75; H, 9.20; N, 5.33; S, 13.30; Obt.: C, 48.51; H, 8.21; N, 6.69; S, 12.39.

4.5.2.16 Dendrímtero heterofuncionalizado

$G_2O_3(S-OH)(S-NMe_2)_{11}$ (**72**)

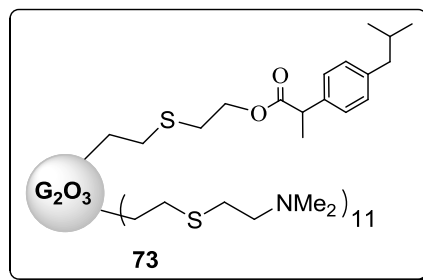
Método sintético 7.



Datos: **71** (0.600 g, 0.21 mmol) y NaOH (0.100 g, 2.50 mmol). Aceite amarillento (0.418 g, 81 %)

RMN- 1H ($CDCl_3$): δ -0.08 (s, 9 H, OC_4H_8SiMe), 0.00 (s, 18 H, $SiMeC_2H_4S$), 0.54 (m, 30 H, $OCH_2CH_2CH_2CH_2SiCH_2$ y $CH_2SiC_2H_3$), 0.87 (t, $J_a = 8.7$ Hz, 24 H, $SiCH_2CH_2S$), 1.28 (m, 12 H, $SiCH_2CH_2CH_2Si$), 1.41 (m, 6 H, $OCH_2CH_2CH_2CH_2Si$), 1.75 (m, 6 H, $OCH_2CH_2CH_2$), 2.24 (s, 66 H, $-NMe_2$), 2.48 (m, 22 H, SCH_2CH_2N), 2.51 (m, 24 H, $SiCH_2CH_2S$), 2.57 (m, 22 H, SCH_2CH_2N), 2.70 (m, 2 H, SCH_2CH_2O), 3.68 (m, 2 H, SCH_2CH_2O), 3.88 (m, 6 H, $OCH_2CH_2CH_2$), 6.04 (s, 3 H, C_6H_4). RMN- $^{13}C\{^1H\}$ ($CDCl_3$): δ -5.2 y -5.1 ($SiCH_3$), 13.8 ($OCH_2CH_2CH_2CH_2Si$), 14.7 ($SiCH_2CH_2S$), 18.3, 18.4 y 18.6 ($SiCH_2CH_2CH_2Si$), 20.6 ($OCH_2CH_2CH_2$), 27.7 ($SiCH_2CH_2S$), 29.7 (SCH_2CH_2N), 33.3 ($OCH_2CH_2CH_2$), 35.0 (SCH_2CH_2O), 45.3 ($-NMe_2$), 59.2 (CH_2N^+), 60.7 (SCH_2CH_2O), 67.7 ($OCH_2CH_2CH_2$), 93.7 (C_6H_4 , C-H), 160.9 (C_6H_4 , C-O). Anal. Calc. $C_{115}H_{253}N_{11}O_4S_{12}Si_9$ (2491.86 g/mol): C, 55.43; H, 10.23; N, 6.18; Obt.: C, 54.81; H, 10.23; N, 5.69.

4.5.2.17 Dendrímtero heterofuncionalizado $G_2O_3(OCOibu)(S-NMe_2)_{11}$ (**73**)



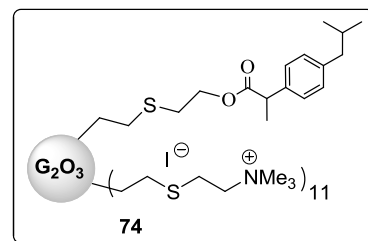
A una disolución de **72** (0.114 g, 0.04 mmol) bajo argón, en una ampolla valvulada y en DMF seco, se añaden dos equivalentes de S-(+)-ibuprofeno (0.019 g, 0.09 mmol) y 4 equivalentes de DMAP (0.047 g, 0.18 mmol). La mezcla se deja agitar a temperatura ambiente durante una noche. Tras ese tiempo se añaden 4 equivalentes de EDCI (0.035 g, 0.18 mmol) y se calienta a 60 °C durante 2 días más. Transcurrido ese tiempo se evaporan los volátiles, añade THF y tras filtrar se realiza una columna de exclusión por tamaños obteniéndose finalmente **73** como un aceite amarillento (0.115 g, 93 %).

RMN- ^1H (CDCl_3): δ -0.07 (s, 9 H, $\text{OC}_4\text{H}_8\text{SiMe}$), -0.01 (s, 18 H, $\text{SiMeC}_2\text{H}_4\text{S}$), 0.55 (m, 30 H, $\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{SiCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{Si}$), 0.86 (m, 30 H, $\text{SiCH}_2\text{CH}_2\text{S}$ y $\text{CH}(\text{CH}_3)_2$), 1.26 (m, 21 H, $\text{SiCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{Si}$), 1.42 (m, 6 H, $\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{Si}$), 1.45 (d, $J = 7.2$ Hz, 3 H, $\text{CH}(\text{CH}_3)\text{CO}$), 1.76 (m, 7 H, $\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2$ y $\text{CH}(\text{CH}_3)_2$), 2.21 (s, 66 H, $-\text{NMe}_2$), 2.42 (m, 2 H, CH_2Ar), 2.47 (m, 22 H, $\text{SCH}_2\text{CH}_2\text{N}$), 2.50 (m, 24 H, $\text{SiCH}_2\text{CH}_2\text{S}$), 2.57 (m, 22 H, $\text{SCH}_2\text{CH}_2\text{N}$), 2.70 (m, 2 H, $\text{SCH}_2\text{CH}_2\text{O}$), 3.88 (m, 6 H, $\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2$), 4.17 (m, 2 H, CH_2OCO), 6.05 (s, 3 H, C_6H_4), 7.10 y 7.16 (m, 4 H, Ar, C-H). RMN- $^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ (CDCl_3): δ -5.3 y -5.1 (SiCH_3), 13.5 ($\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{Si}$), 14.6 ($\text{SiCH}_2\text{CH}_2\text{S}$), 18.3-18.6 ($\text{SiCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{Si}$ y $(\text{CH}_3)\text{CH}$), 20.5 ($\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2$), 22.4 ($\text{CH}(\text{CH}_3)_2$), 27.6 ($\text{SiCH}_2\text{CH}_2\text{S}$), 29.5 ($\text{SCH}_2\text{CH}_2\text{N}$), 30.1 ($\text{CH}(\text{CH}_3)_2$), 33.2 ($\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2$), 34.9 ($\text{SCH}_2\text{CH}_2\text{O}$), 45.0 (CHCO), 45.2 ($-\text{NMe}_2$), 45.4 (CH_2Ar), 59.1 (CH_2N^+), 63.6 ($\text{SCH}_2\text{CH}_2\text{O}$), 67.9 ($\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2$), 93.6 (C_6H_4 , C-H), 127.1 y 129.3 ($\text{C}_6\text{H}_4(\text{Ibu})$, C-H), 137.5 y 140.5 ($\text{C}_6\text{H}_4(\text{Ibu})$, C-H), 160.9 (C_6H_4 , C-O), 174.5 (C=O). Anal. Calc. $\text{C}_{128}\text{H}_{269}\text{N}_{11}\text{O}_5\text{S}_{12}\text{Si}_9$ (2680.13 g/mol): C, 57.36; H, 10.12; N, 5.75; S, 14.36; Obt.: C, 54.61; H, 9.84; N, 4.73; S, 14.06.

4.5.2.18 Dendrímero heterofuncionalizado

$\text{G}_2\text{O}_3(\text{OCOibu})(\text{S}-\text{NMe}_3^+\text{I}^-)_{11}$ (74)

Método sintético 4.

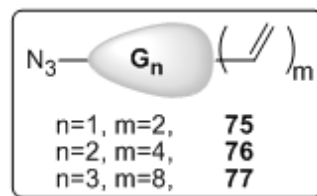


Datos: **73** (0.028 g, 0.01 mmol) y MeI (0.01 ml, 0.13 mmol). Sólido amarillo (0.028 g, 65 %).

RMN- ^1H ($\text{DMSO}-d_6$): δ -0.06 (s, 9 H, $\text{OC}_4\text{H}_8\text{SiMe}$), 0.04 (s, 18 H, $\text{SiMeC}_2\text{H}_4\text{S}$), 0.56 (m, 30 H, $\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{SiCH}_2$ y $\text{CH}_2\text{SiC}_2\text{H}_3$), 0.84 (m, 30 H, $\text{SiCH}_2\text{CH}_2\text{S}$ y $\text{CH}(\text{CH}_3)_2$), 1.34 (m, 21 H, $\text{SiCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{Si}$ y CHCH_3), 1.43 (m, 6 H, $\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{Si}$), 1.75 (m, 7 H, $\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2$ y $\text{CH}(\text{CH}_3)_2$), 2.63 (m, 24 H, $\text{SiCH}_2\text{CH}_2\text{S}$), 2.90 (m, 22 H, $\text{SCH}_2\text{CH}_2\text{N}^+$), 3.10 (s, 99 H, $-\text{NMe}_3^+$), 3.53 (m, 22 H, $\text{SCH}_2\text{CH}_2\text{N}^+$), 3.86 (m, 6 H, $\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2$), 4.13 (m, 2 H, CH_2OCO), 6.01 (s, 3 H, C_6H_4), 7.08 y 7.15 (m, 4 H, Ar, C-H). RMN- $^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ ($\text{DMSO}-d_6$): δ -5.7 (SiCH_3), 13.7 ($\text{SiCH}_2\text{CH}_2\text{S}$), 17.4 ($\text{SiCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{Si}$), 19.6

(OCH₂CH₂CH₂), 21.7 (CH(CH₃)₂), 23.1 (SiCH₂CH₂S), 26.4 (SCH₂CH₂N), 29.1 (OCH₂CH₂CH₂), 43.7 (CH₂Ar), 47.8 (-NMe₃⁺), 64.0 (CH₂N⁺), 126.6 y 128.7 (C₆H₄(Ibu), C-H). Anal. Calc. C₁₃₉H₃₀₂I₁₁N₁₁O₅S₁₂Si₉ (4241.45 g/mol): C, 39.36; H, 7.18; N, 3.63; S, 9.07; Obt.: C, 35.80; H, 7.17; N, 3.16; S, 7.36.

4.5.2.19 Dendrones con azida en el punto focal y grupos vinilo periféricos (75-77)



A una disolución en acetona de dendrón con grupos vinilo terminales y un átomo de bromo en el punto focal se añaden dos equivalentes de azida de sodio y un 10 % de éter corona. Tras una noche calentando a 60 °C, se eliminan los volátiles y se realiza una extracción Et₂O/NH₄Cl (ac). Tras secar la fase orgánica con MgSO₄ y eliminar los disolventes a vacío se obtienen los compuestos deseados como aceites amarillentos viscosos.

N₃G₁V₂ (75)

Datos: **15** (0.500 g, 2.15 mmol), NaN₃ (0.965 g, 4.30 mmol) y 18C6 (0.061 g, 0.24 mmol). Aceite incoloro (0.389 g, 93 %).

RMN-¹H (CDCl₃): δ 0.13 (s, 3 H, SiMeC₂H₃), 0.64 (t, J = 8.2 Hz, 2 H, CH₂SiC₂H₃), 1.40 (m, 2 H, N₃CH₂CH₂CH₂CH₂Si), 1.61 (m, 2 H, N₃CH₂CH₂CH₂CH₂Si), 3.32 (t, J = 6.9 Hz, 2 H, N₃CH₂CH₂CH₂CH₂Si), 5.70 y 6.06 (m, 6 H, SiCHCH₂). RMN-¹³C {¹H} (CDCl₃): δ -5.4 (SiCH₃), 13.6 (N₃CH₂CH₂CH₂CH₂Si), 20.9 (N₃CH₂CH₂CH₂CH₂Si), 32.4 (N₃CH₂CH₂CH₂CH₂Si), 51.0 (N₃CH₂CH₂CH₂CH₂Si), 133.1 (SiCHCH₂), 136.6 (SiCHCH₂). RMN-¹⁵N (CDCl₃): δ -308.7 (N=N=N-CH₂), -131.9 (N=N=N-CH₂). RMN-²⁹Si (CDCl₃): δ -12.9 (SiCHCH₂). MALDI [M+H]⁺ = 196.12 uma (calcd. = 196.12 uma). IR (KBr, cm⁻¹): 2094, ν(N₃). Anal. Calc. C₉H₁₇N₃Si (195.34 g/mol): C, 55.34; H, 8.77; N, 21.51; Obt.: C, 55.63; H, 8.49; N, 21.89.

N₃G₂V₄ (76)

Datos: **16** (0.703 g, 1.53 mmol), NaN₃ (0.688 g, 3.07 mmol) y 18C6 (0.041 g, 0.16 mmol). Aceite amarillento (0.601 g, 93 %).

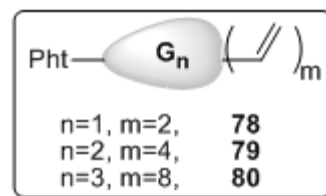
RMN-¹H (CDCl₃): δ -0.09 (s, 3 H, SiMe), 0.11 (s, 6 H, SiMeC₂H₃), 0.49 (t, J = 8,6 Hz, 2 H, N₃CH₂CH₂CH₂CH₂Si), 0.55 (t, J = 7.9 Hz, 4 H, SiCH₂), 0.69 (t, J = 7.9 Hz, 4 H, CH₂SiC₂H₃), 1.33 (m, 6 H, N₃CH₂CH₂CH₂CH₂Si y SiCH₂CH₂CH₂Si), 1.59 (m, 2 H, N₃CH₂CH₂CH₂CH₂Si), 3.24 (t, J = 6.6 Hz, 2 H, N₃CH₂CH₂CH₂CH₂Si), 5.69 and 6.06 (m, 6 H, SiCHCH₂). RMN-¹³C{¹H} (CDCl₃): δ -5.2 y -5.1 (SiCH₃), 13.5 (N₃CH₂CH₂CH₂CH₂Si), 18.3, 18.5 y 18.7 (SiCH₂CH₂CH₂Si), 21.2 (N₃CH₂CH₂CH₂CH₂Si), 32.6 (N₃CH₂CH₂CH₂CH₂Si), 51.0 (N₃CH₂CH₂CH₂CH₂Si), 132.6 (SiCHCH₂), 137.1 (SiCHCH₂). RMN-¹⁵N (CDCl₃): δ -308.3 (N=N=N-CH₂), -131.2 (N=N=N-CH₂). RMN-²⁹Si (CDCl₃): δ -13.5 (SiCHCH₂), 1.7 (Si-N₂C₄H₈Si). MALDI [M+H]⁺ = 420.29 uma (calcd. = 420.26 uma). IR (KBr, cm⁻¹): 2093, ν(N₃). Anal. Calcd. C₂₁H₄₁N₃Si₃ (419.83 g/mol): C, 60.08; H, 9.84; N, 10.01; Obt.: C, 59.59; H, 10.16; N, 9.31.

N₃G₃V₈ (77)

Datos: **17** (0.562 g, 0.62 mmol), NaN₃ (0.278 g, 1.24 mmol) y 18C6 (0.016 g, 0.06 mmol). Aceite amarillento (0.425 g, 75 %).

RMN-¹H (CDCl₃): δ -0.12 (s, 9 H, SiMe), 0.11 (s, 12 H, SiMeC₂H₃), 0.53 (m, 18 H, CH₂Si), 0.69 (t, J = 7.9 Hz, 8 H, CH₂SiC₂H₃), 1.33 (m, 6 H, N₃CH₂CH₂CH₂CH₂Si y SiCH₂CH₂CH₂Si), 1.59 (m, 2 H, N₃CH₂CH₂CH₂CH₂Si), 3.24 (t, J = 6.6 Hz, 2 H, N₃CH₂CH₂CH₂CH₂Si), 5.69 y 6.06 (m, 6 H, SiCHCH₂). RMN-¹³C{¹H} (CDCl₃): δ -5.2 y -5.0 (SiCH₃), 14.0 (N₃CH₂CH₂CH₂CH₂Si), 18.3-18.9 (SiCH₂CH₂CH₂Si), 21.2 (N₃CH₂CH₂CH₂CH₂Si), 33.8 (N₃CH₂CH₂CH₂CH₂Si), 51.1 (N₃CH₂CH₂CH₂CH₂Si), 132.6 (SiCHCH₂), 137.2 (SiCHCH₂). RMN-²⁹Si (CDCl₃): δ -13.5 (SiCHCH₂), 1.0 (G₂-Si). MALDI [M+H]⁺ = 869.56 uma (calcd. = 869.56 uma). IR (KBr, cm⁻¹): 2093, ν(N₃). Anal. Calc. C₄₅H₈₉N₃Si₇ (868.81 g/mol): C, 62.21; H, 10.33; N, 4.84; Obt.: C, 61.31; H, 9.81; N, 4.72.

4.5.2.20 Dendrones con ftalimida en el punto focal y grupos vinilo periféricos (78-80)



A una disolución en DMF de dendrón con grupos vinilo terminales y un átomo de bromo en el punto focal se añaden cuatro equivalentes de ftalimida de potasio y cantidades catalíticas de yoduro de sodio. Tras una noche calentando a 80 °C, se eliminan los volátiles y se realiza una extracción Et₂O/NH₄Cl (ac). Tras secar la fase orgánica con MgSO₄ y eliminar los disolventes a vacío se obtienen los compuestos deseados como aceites amarillentos viscosos.

PhtG₁V₂ (78)

Datos: **15** (0.270 g, 1.16 mmol), PhtK (0.875 g, 4.64 mmol). Aceite amarillento (0.211 g, 61 %).

RMN-¹H (CDCl₃): δ 0.11 (s, 3 H, SiMe), 0.67 (t, J = 8.8 Hz, 2 H, NCH₂CH₂CH₂CH₂Si), 1.36 (m, 2 H, NCH₂CH₂CH₂CH₂Si), 1.68 (m, 2 H, NCH₂CH₂CH₂CH₂Si), 3.64 (t, J = 7.3 Hz, 2 H, NCH₂), 5.69 y 6.05 (m, 6 H, SiCHCH₂), 7.68 y 7.81 (m, 4 H, C₆H₄). RMN-¹³C{¹H} (CDCl₃): δ -5.5 (SiCH₃), 13.4 (NCH₂CH₂CH₂CH₂Si), 21.0 (NCH₂CH₂CH₂CH₂Si), 32.0 (NCH₂CH₂CH₂CH₂Si), 37.6 (NCH₂), 123.0 (C₆H₄, C-H), 132.1 (C₆H₄, C_{ipso}), 132.9 (SiCHCH₂), 133.7 (C₆H₄, C-H), 136.6 (SiCHCH₂), 168.3 (C=O). RMN-¹⁵N (CDCl₃): δ -216.7; RMN-²⁹Si (CDCl₃): δ -12.8 (G₁-SiMe). IR (KBr, cm⁻¹): 1717 y 1773, ν(C=O). MALDI [M+H]⁺ = 300.15 uma (calcd. = 300.14 uma). Anal. Calcd. C₁₇H₂₁NO₂Si (299.44 g/mol): C, 68.19; H, 7.07; N, 4.68; Obt.: C, 68.67; H, 7.16; N, 4.67.

PhtG₂V₄ (79)

Datos: **16** (0.986 g, 2.15 mmol), PhtK (1.628 g, 8.61 mmol). Aceite amarillento (1.020 g, 90 %).

RMN-¹H (CDCl₃): δ -0.12 (s, 3 H, SiMe), 0.09 (s, 6 H, SiMe), 0.52 (m, 6 H, SiCH₂CH₂CH₂Si y NCH₂CH₂CH₂CH₂Si), 0.66 (t, J = 8.1 Hz, 4 H, CH₂SiCHCH₂), 1.30 (m, 6 H, SiCH₂CH₂CH₂Si y NCH₂CH₂CH₂CH₂Si), 1.65 (m,

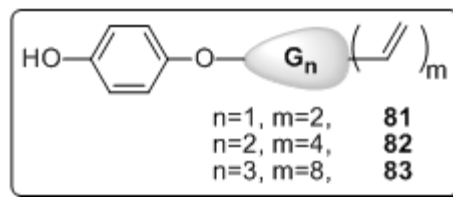
2 H, NCH₂CH₂CH₂CH₂Si), 3.65 (t, J = 7.6 Hz, 2 H, NCH₂), 5.66 y 6.04 (m, 12 H, SiCHCH₂), 7.68 y 7.81 (m, 4 H, C₆H₄). RMN-¹³C{¹H} (CDCl₃): δ -5.2 (SiCH₃), -5.1 (SiCH₃), 13.6 (NCH₂CH₂CH₂CH₂Si), 18.3-18.7 (SiCH₂CH₂CH₂Si), 21.4 (NCH₂CH₂CH₂CH₂Si), 32.4 (NCH₂CH₂CH₂CH₂Si), 37.8 (NCH₂), 123.1 (C₆H₄, C-H), 132.2 (C₆H₄, C_{ipso}), 132.6 (SiCHCH₂), 133.8 (C₆H₄, C-H), 137.2 (SiCHCH₂), 168.4 (C=O). RMN-¹⁵N (CDCl₃): δ -216.9; RMN-²⁹Si (CDCl₃): δ -13.5 (G₂-SiMe), 1.8 (G₁-SiMe). IR (KBr, cm⁻¹): 1717 y 1773 ν(C=O). MALDI [M+H]⁺ = 524.3 uma (calcd. = 524.3 uma). Anal. Calcd. C₂₉H₄₅NO₂Si₃ (523.93 g/mol): C, 66.48; H, 8.66; N, 2.67; O, 6.11; Si, 16.08; Obt.: C, 65.67; H, 8.16; N, 2.67.

PhtG₃V₈ (80)

Datos: **17** (1.237 g, 1.36 mmol), PhtK (1.031 g, 5.46 mmol). Aceite amarillento (1.197 g, 90 %).

RMN-¹H (CDCl₃): δ -0.12 (s, 6 H, SiMe), -0.11 (s, 3 H, SiMe), 0.09 (s, 12 H, SiMe), 0.51 (m, 18 H, SiCH₂CH₂CH₂Si y NCH₂CH₂CH₂CH₂Si), 0.68 (t, J = 8.6 Hz, 8 H, CH₂SiCHCH₂), 1.30 (m, 14 H, SiCH₂CH₂CH₂Si y NCH₂CH₂CH₂CH₂Si), 1.66 (m, 2 H, NCH₂CH₂CH₂CH₂Si), 3.65 (t, J = 7.6 Hz, 2H, NCH₂), 5.68 y 6.05 (m, 24 H, SiCHCH₂), 7.68 y 7.82 (m, 4 H, C₆H₄). RMN-¹³C{¹H} (CDCl₃): δ -5.2 (SiCH₃), -5.0 (SiCH₃), 13.6 (NCH₂CH₂CH₂CH₂Si), 18.3-18.9 (SiCH₂CH₂CH₂Si), 21.4 (NCH₂CH₂CH₂CH₂Si), 32.4 (NCH₂CH₂CH₂CH₂Si), 37.7 (NCH₂), 123.1 (C₆H₄, C-H), 132.2 (C₆H₄, C_{ipso}), 132.6 (SiCHCH₂), 133.8 (C₆H₄, C-H), 137.2 (SiCHCH₂), 168.4 (C=O). RMN-¹⁵N (CDCl₃): δ -216.7; RMN-²⁹Si (CDCl₃): δ -13.5 (G₃-SiMe), 1.8 (G₂-SiMe). IR (KBr, cm⁻¹): 1718 y 1772, ν(C=O). MALDI [M+Na]⁺ = 994.6 uma (calcd. = 995.6 uma). Anal. Calcd. C₅₃H₉₃NO₂Si₇ (972.91 g/mol): C, 64.43; H, 9.63; N, 1.44; Exp.: C, 64.42; H, 8.96; N, 2.08.

4.5.2.21 Dendrones con un grupo fenol en el punto focal y grupos vinilo periféricos (81-83)



En una ampolla con llave de teflón se añade una disolución en acetona del dendrón BrG_nV_m correspondiente, 10 equivalentes de hidroquinona (p-dihidroxibenceno), 2 equivalentes de K_2CO_3 y un 10 % de éter corona. Esta disolución se deja agitar a 90 °C durante dos días tras los cuales se evaporan los volátiles a vacío y se realiza una extracción $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{NH}_4\text{Cl}$ (ac). La fase orgánica se secó con MgSO_4 , añadiéndose SiO_2 durante los últimos 10 minutos.

El derivado de primera generación se purificó empleando una columna cromatográfica de alúmina utilizando mezclas de acetato de etilo:hexano de creciente polaridad, obteniéndose la mayor fracción del compuesto deseado en las fracciones eluidas con una mezcla en la proporción 60:40. Los derivados de segunda y tercera generación se purificaron empleando una columna de cromatografía de exclusión por tamaños.

$\text{HOC}_6\text{H}_4\text{OG}_1\text{V}_2$ (81)

Datos: **15** (0.600 g, 2.57 mmol), hidroquinona (2.860 g, 25.68 mmol), K_2CO_3 (0.710 g, 5.14 mmol) y 18-C-6 (0.070 g, 0.26 mmol). Aceite amarillento (0.400 g, 60 %).

RMN- ^1H (CDCl_3): δ 0.14 (s, 3 H, SiMe), 0.68 (t, $J_a = 8.5$ Hz, 2 H, CH_2Si), 1.48 (m, 2 H, $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{Si}$), 1.77 (m, 2 H, OCH_2CH_2), 3.88 (t, $J_b = 6.4$ Hz, 2 H, OCH_2), 4.65 (sa, 1 H, HOAr-), 5.71 y 6.08 (m, 6 H, SiCHCH_2), 6.75 (m, 4 H, $\text{C}_6\text{H}_4\text{O}_2$). RMN- $^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ (CDCl_3): δ -5.4 (SiCH_3), 13.7 ($\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{Si}$), 20.2 ($\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{Si}$), 32.9 ($\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{Si}$), 68.3 (OCH_2), 115.6 y 115.9 ($\text{C}_6\text{H}_4\text{O}_2$; C-H), 132.9 (SiCHCH_2), 136.8 (SiCHCH_2), 149.3 y 153.2 ($\text{C}_6\text{H}_4\text{O}_2$; C-O). RMN- ^{29}Si (CDCl_3): δ -12.8 ($\text{G}_1\text{-SiMe}$). IR (KBr, cm^{-1}): 3399, $\nu(\text{OH})$, y 1507 $\nu(\text{C}_{\text{ar}}\text{-C}_{\text{ar}})$. MALDI $[\text{M}]^+ = 262.1$ uma (calcd. = 262.1 uma). Anal. Calcd. $\text{C}_{15}\text{H}_{22}\text{O}_2\text{Si}$ (262.42 g/mol): C, 68.65; H, 8.45; Obt.: C, 69.08; H, 8.53.

HOC₆H₄OG₂V₄ (82)

Datos: **16** (1.170 g, 2.55 mmol), hidroquinona (2.830 g, 25.47 mmol), K₂CO₃ (0.704 g, 5.09 mmol) y 18-C-6 (0.067 g, 0.25 mmol). Aceite amarillento (0.786 g, 63 %).

RMN-¹H (CDCl₃): δ -0.09 (s, 3 H, SiMe), 0.11 (s, 6 H, SiMe), 0.54 (m, 6 H, OCH₂CH₂CH₂CH₂Si y SiCH₂CH₂CH₂Si), 0.68 (t, J_a = 8.1 Hz, 4 H, CH₂SiC₂H₃), 1.33 (m, 6 H, OCH₂CH₂CH₂CH₂Si y SiCH₂CH₂CH₂Si), 1.74 (m, 2 H, OCH₂CH₂), 3.86 (t, J_b = 6.4 Hz, 2 H, -OCH₂), 3.99 (sa, 1 H, HOAr-), 5.67 y 6.06 (m, 12 H, SiCHCH₂), 6.74 (m, 4 H, C₆H₄O₂). RMN-¹³C{¹H} (CDCl₃): δ -5.2 (SiCH₃), -5.0 (SiCH₃), 13.8 (OCH₂CH₂CH₂CH₂Si), 18.3, 18.5 y 18.7 (SiCH₂CH₂CH₂Si), 20.5 (OCH₂CH₂CH₂CH₂Si), 33.2 (OCH₂CH₂CH₂CH₂Si), 68.3 (OCH₂), 115.5 y 115.9 (C₆H₄O₂; C-H), 132.6 (SiCHCH₂), 137.1 (SiCHCH₂), 149.3 y 153.2 (C₆H₄O₂; C-O). RMN-²⁹Si (CDCl₃): δ -13.5 (G₂-SiMe), 1.8 (G₁-SiMe). IR (KBr, cm⁻¹): 3399, ν(OH), y 1507, ν(C_{ar}-C_{ar}). Masas: [M+NH₄]⁺ = 504.31 uma (calcd. = 504.31), [M+Na⁺]⁺ = 509.27 uma (calcd. = 509.27). Anal. Calc. C₂₇H₄₆O₂Si₃ (486.91 g/mol): C, 66.60; H, 9.52; Obt.: C, 66.77; H, 8.93.

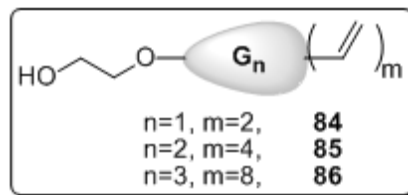
HOC₆H₄OG₃V₈ (83)

Datos: **17** (1.859 g, 2.05 mmol), hidroquinona (2.280 g, 20.71 mmol), K₂CO₃ (0.567 g, 4.10 mmol) y 18-C-6 (0.054 g, 0.20 mmol). Aceite amarillento (1.151 g, 60 %).

RMN-¹H (CDCl₃): δ -0.11 (s, 6 H, SiMe), -0.09 (s, 3 H, SiMe), 0.11 (s, 12 H, SiMe), 0.51 (m, 18 H, OCH₂CH₂CH₂CH₂Si y SiCH₂CH₂CH₂Si), 0.68 (t, J_a = 8.1 Hz, 8 H, CH₂SiC₂H₃), 1.29 (m, 4 H, SiCH₂CH₂CH₂Si), 1.33 (m, 8 H, CH₂CH₂SiC₂H₃), 1.41 (m, 2 H, OCH₂CH₂CH₂), 1.75 (m, 2 H, OCH₂CH₂), 3.87 (t, J_b = 6.4 Hz, 2 H, OCH₂), 5.49 y 6.05 (m, 24 H, SiCHCH₂), 6.74 (m, 4 H, C₆H₄O₂). RMN-¹³C{¹H} (CDCl₃): δ -5.2 (SiCH₃), -5.0 (SiCH₃), -4.9 (SiCH₃), 13.8 (OCH₂CH₂CH₂CH₂Si), 18.3, 18.4, 18.7, 18.7, 18.8 y 18.9 (SiCH₂CH₂CH₂Si), 20.5 (OCH₂CH₂CH₂CH₂Si), 33.3 (OCH₂CH₂CH₂CH₂Si),

68.3 (OCH₂), 115.5 y 115.9 (C₆H₄O₂; C-H), 132.6 (SiCHCH₂), 137.2 (SiCHCH₂), 149.2 y 153.4 (C₆H₄O₂; C-O). RMN-²⁹Si (CDCl₃): δ 1.0 (G₂-SiMe), -13.5 (G₁-SiMe). IR (KBr, cm⁻¹): 3399, ν(OH), y 1507, ν(C_{ar}-C_{ar}). Masas: [M+Na]⁺ = 957.6 uma (calcd. = 957.6 uma), [M-H]⁻ = 933.5 (calcd. = 933.6). Anal. Calcd. C₅₁H₉₄O₂Si₇ (935.89 g/mol): C, 65.45; H, 10.12; Obt.: C, 65.71; H, 9.68.

4.5.2.2 Dendrones con un grupo alcohol en el punto focal y grupos vinilo periféricos (84-86)



El NaH purificado (2.5 equivalentes) se suspende en THF seco y se añade bajo argón, gota a gota y a 0 °C sobre una ampolla que contiene una disolución en THF seco de dietilenglicol (2 equivalentes). La mezcla de reacción se agita durante 1 h a 0 °C y posteriormente se añade sobre ella una disolución en THF seco del dendrón BrG_nV_m (1 equivalente), éter corona (0.2 equivalentes) y NaI. La ampolla se sella y se calienta a 100 °C con agitación durante una noche para la primera y la segunda generación y a 120 °C para la tercera generación. Finalmente se evapora el disolvente en la línea de vacío y se extrae en Et₂O/NH₄Cl (ac). Las fases orgánicas se juntan, se secan sobre MgSO₄ y SiO₂. Se filtra la disolución y se evapora el disolvente para obtener los compuestos deseados como aceites incoloros.

HOC₂H₄OG₁V₂ (84)

Datos: **15** (0.380 g, 0.42 mmol), etilenglicol (46 µl, 0.84 mmol), NaH (0.040 g, 1.01 mmol) y 18-C-6 (0.053 g, 0.20 mmol). Aceite amarillento (0.253 g, 84 %).

RMN-¹H (CDCl₃): δ 0.13 (s, 3 H, SiMe), 0.66 (t, J_a = 7.5 Hz, 2 H, CH₂Si), 1.39 (m, 2 H, CH₂CH₂Si), 1.62 (m, 2 H, OCH₂CH₂), 2.27 (sa, 1 H, HO-), 3.47 (t, 2 H, OCH₂), 3.52 (t, 2 H, HOCH₂CH₂O, superpuestas), 3.71 (m, 2 H, HOCH₂CH₂O), 5.71 y 6.08 (m, 6 H, SiCHCH₂). RMN-¹³C{¹H} (CDCl₃): δ -5.4

(SiCH₃), 13.8 (OCH₂CH₂CH₂CH₂Si), 20.2 (OCH₂CH₂CH₂CH₂Si), 33.2 (OCH₂CH₂CH₂CH₂Si), 61.8 (HOCH₂CH₂O), 70.9 (OCH₂CH₂CH₂CH₂Si), 71.7 (HOCH₂CH₂O), 132.8 (SiCHCH₂), 136.8 (SiCHCH₂). RMN-²⁹Si (CDCl₃): δ -12.8 (G₁-SiMe). IR (KBr, cm⁻¹): 3429, ν(OH). Masas: [M+Na⁺]⁺ = 237.13 uma (calcd. = 237.14). Anal. Calcd. C₁₁H₂₂O₂Si (214.38 g/mol): C, 61.63; H, 10.34; Obt.: C, 59.11; H, 9.88.

HOC₂H₄OG₂V₄ (85)

Datos: **16** (0.955 g, 2.03 mmol), etilenglicol (0.23 ml, 4.17 mmol), NaH (0.200 g, 5.00 mmol) y 18-C-6 (0.110 g, 0.42 mmol). Aceite amarillento (0.832 g, 91 %).

RMN-¹H (CDCl₃): δ -0.09 (s, 3 H, SiMe), 0.12 (s, 6 H, SiMe), 0.56 (m, 6 H, CH₂Si), 0.70 (m, 4 H, CH₂SiC₂H₃, superpuestas), 1.34 (m, 6 H, CH₂CH₂Si), 1.59 (m, 2 H, OCH₂CH₂), 2.26 (sa, 1 H, HO-), 3.46 (m, 2 H, OCH₂), 3.52 (m, 2 H, HOCH₂CH₂O, superpuestas), 3.72 (m, 2 H, HOCH₂CH₂O), 5.81 y 6.07 (m, 6 H, SiCHCH₂). RMN-¹³C{¹H} (CDCl₃): δ -5.2 y -5.1 (SiCH₃), 13.8 (OCH₂CH₂CH₂CH₂Si), 18.2–18.7 (SiCH₂CH₂CH₂Si), 20.0 (OCH₂CH₂CH₂CH₂Si), 33.5 (OCH₂CH₂CH₂CH₂Si), 61.8 (HOCH₂CH₂O), 71.1 (OCH₂CH₂CH₂CH₂Si), 71.7 (HOCH₂CH₂O), 132.6 (SiCHCH₂), 137.1 (SiCHCH₂). RMN-²⁹Si (CDCl₃): δ 1.8 (G₁-SiMe), -13.4 (G₂-SiMe). IR (KBr, cm⁻¹): 3429, ν(OH). MALDI [M+Na]⁺ = 461.28 uma (calcd. = 461.28 uma). Anal. Calcd. C₂₃H₄₆O₂Si₃ (438.87 g/mol): C, 62.95; H, 10.56; Obt.: C, 63.24; H, 10.34.

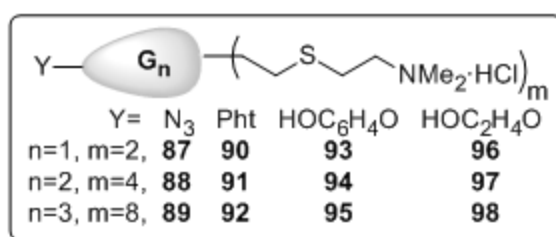
HOC₂H₄OG₃V₈ (86)

Datos: **17** (1.057 g, 1.16 mmol), etilenglicol (0.13 ml, 2.33 mmol), NaH (0.112 g, 2.80 mmol) y 18-C-6 (0.062 g, 0.23 mmol). Aceite amarillento (0.941 g, 91 %).

RMN-¹H (CDCl₃): δ -0.11 (s, 9 H, SiMe), 0.10 (s, 12 H, SiMe), 0.56 (m, 18 H, CH₂Si), 0.71 (m, 8 H, CH₂SiC₂H₃, superpuestas), 1.24 (m, 14 H, CH₂CH₂Si), 1.58 (m, 2 H, OCH₂CH₂), 2.25 (sa, 1 H, HO-), 3.47 (m, 2 H, OCH₂),

3.53 (m, 2 H, HOCH₂CH₂O, superpuestas), 3.73 (m, 2 H, HOCH₂CH₂O), 5.80 y 6.07 (m, 6 H, SiCHCH₂). RMN-¹³C{¹H} (CDCl₃): δ -5.2, -5.1 y -5.0 (SiCH₃), 13.9 (OCH₂CH₂CH₂CH₂Si), 18.3–18.9 (SiCH₂CH₂CH₂Si), 20.5 (OCH₂CH₂CH₂CH₂Si), 33.6 (OCH₂CH₂CH₂CH₂Si), 61.9 (HOCH₂CH₂O), 71.1 (OCH₂CH₂CH₂CH₂Si), 71.7 (HOCH₂CH₂O), 132.6 (SiCHCH₂), 137.2 (SiCHCH₂). RMN-²⁹Si (CDCl₃): δ 1.8 (G₁-SiMe), 0.9 (G₂-SiMe), -13.3 (G₃-SiMe). IR (KBr, cm⁻¹): 3429, ν(OH). MALDI [M+Na]⁺ = 909.56 uma (calcd. = 909.56 uma). Anal. Calcd. C₄₇H₉₄O₂Si₇ (887.85 g/mol): C, 63.58; H, 10.67; Obt.: C, 64.67; H, 11.00.

4.5.2.24 Dendrones con distintos puntos focales y grupos NMe₂·HCl periféricos (87-98)



Y =	N ₃	Pht	HOC ₆ H ₄ O	HOC ₂ H ₄ O
n=1, m=2,	87	90	93	96
n=2, m=4,	88	91	94	97
n=3, m=8,	89	92	95	98

Método sintético 6a.

N₃G₁(S-NMe₂·HCl)₂ (87)

Datos: **75** (0.089 g, 0.46 mmol), hidrocloreuro de 2-(dimetilamino)etanotiol (0.136 g, 0.91 mmol) y DMPA (0.040 g, 0.16 mmol). Sólido blanco (0.188 g, 86 %).

RMN-¹H (DMSO-d₆): δ 0.00 (s, 3H, SiMe), 0.55 (t, J_a = 8.57 Hz, 2 H, NCH₂CH₂CH₂CH₂Si), 0.93 (t, J_b = 7.2 Hz, 4H, SiCH₂CH₂S), 1.34 (m, 2 H, NCH₂CH₂CH₂CH₂Si), 1.58 (m, 2 H, NCH₂CH₂CH₂CH₂Si), 2.65 (t, J_b = 7.2 Hz, 4 H, SiCH₂CH₂S), 2.86 (s, 12 H, -NMe₂·HCl), 3.02 (t, J_c = 7.7 Hz, 4 H, SCH₂CH₂N⁺), 3.27 (m, 6 H, SCH₂CH₂N⁺ y NCH₂). RMN-¹³C{¹H} (DMSO-d₆): δ -5.4 (SiCH₃), 12.4 (N₃CH₂CH₂CH₂CH₂Si), 13.5 (SiCH₂CH₂S), 20.2 (N₃CH₂CH₂CH₂CH₂Si), 24.3 (SCH₂CH₂N⁺), 26.0 (SiCH₂CH₂S), 31.5 (N₃CH₂CH₂CH₂CH₂Si), 41.4 (-NMe₂H⁺), 49.7 (N₃CH₂), 55.3 (CH₂N⁺). RMN-¹⁵N (DMSO-d₆): δ -338.4 (-NMe₂H⁺), -308.6 (N=N=N-CH₂), -131.7 (N=N=N-CH₂). RMN-²⁹Si (DMSO-d₆): δ 3.0 (G₁-SiMe). ESI: [M-Cl-HCl]⁺ = 406.25 uma

(calcd. = 406.25 uma). Anal. Calc. $C_{17}H_{41}Cl_2N_5S_2Si$ (478.66 g/mol): C, 42.66; H, 8.63; N, 14.63; S, 13.40; Obt.: C, 41.96; H, 8.05; N, 13.59; S, 14.30.

$N_3G_2(S-NMe_2\cdot HCl)_4$ (88)

Datos: **76** (0.485 g, 1.16 mmol), hidrocloreuro de 2-(dimetilamino)etanotiol (0.687 g, 4.85 mmol) y DMPA (0.118 g, 0.46 mmol). Sólido blanco (0.597 g, 52 %).

RMN- 1H (DMSO- d_6): 0.00 (s, 3 H, *SiMe*), 0.55 (t, $J_a = 8.6$ Hz, 2 H, $NCH_2CH_2CH_2CH_2Si$), 0.93 (t, $J_b = 7.2$ Hz, 4 H, $SiCH_2CH_2S$), 1.34 (m, 2 H, $NCH_2CH_2CH_2CH_2Si$), 1.58 (m, 2 H, $NCH_2CH_2CH_2CH_2Si$), 2.65 (t, $J_b = 7.2$ Hz, 4 H, $SiCH_2CH_2S$), 2.86 (s, 12 H, $-NMe_2\cdot HCl$), 3.02 (m, 6 H, $SCH_2CH_2N^+$ y N_3CH_2), 3.27 (m, 8 H, $SCH_2CH_2N^+$). RMN- $^{13}C\{^1H\}$ (DMSO- d_6): δ -5.7 (*SiCH*₃), -5.4 (*SiMe*), 12.4 ($N_3CH_2CH_2CH_2CH_2Si$), 13.5 ($SiCH_2CH_2S$), 17.2, 17.4 y 17.6 ($SiCH_2CH_2CH_2Si$), 20.2 ($N_3CH_2CH_2CH_2$), 24.3 ($SCH_2CH_2N^+$), 26.0 ($SiCH_2CH_2S$), 31.5 ($N_3CH_2CH_2$), 41.4 ($-NMe_2H^+$), 49.7 (N_3CH_2), 55.3 (CH_2N^+). RMN- ^{15}N (DMSO- d_6): δ -338.4 ($-NMe_2H^+$), -308.7 ($N=N=N-CH_2$), -131.9 ($N=N=N-CH_2$). RMN- ^{29}Si (DMSO- d_6): δ 1.7 (G_1-SiMe), 2.4 (G_2-SiMe). ESI: $[M-2HCl-2Cl]^{2+} = 420.76$ uma (calcd. = 420.76 uma). Anal. Calc. $C_{37}H_{89}Cl_4N_7S_4Si_3$ (986.48 g/mol): C, 45.05; H, 9.09; N, 9.94; S, 13.00; Obt.: C, 44.23; H, 9.73; N, 9.14; S, 12.62.

$N_3G_3(S-NMe_2\cdot HCl)_8$ (89)

Datos: **77** (0.255 g, 0.61 mmol), hidrocloreuro de 2-(dimetilamino)etanotiol (0.722 g, 5.10 mmol) y DMPA (0.062 g, 0.24 mmol). Sólido blanco (0.543 g, 58 %).

RMN- 1H (DMSO- d_6): δ 0.00 (s, 9 H, *SiMe*), 0.55 (m, 10 H, CH_2Si), 0.93 (m, 8 H, $SiCH_2CH_2S$), 1.34 (m, 6 H, $CH_2CH_2CH_2$), 1.58 (m, 2 H, NCH_2CH_2), 2.65 (m, 8 H, $SiCH_2CH_2S$), 2.86 (s, 24 H, $-NMe_2\cdot HCl$), 3.02 (m, 8 H, $SCH_2CH_2N^+$), 3.27 (m, 10 H, $SCH_2CH_2N^+$ y NCH_2). RMN- $^{13}C\{^1H\}$ (DMSO- d_6): δ -5.7 (*SiMe*), -5.2 (*SiMe*), 12.5 ($N_3CH_2CH_2CH_2CH_2Si$), 13.6 ($SiCH_2CH_2S$), 16.2-17.8 ($SiCH_2CH_2CH_2Si$), 20.2 ($N_3CH_2CH_2CH_2CH_2Si$), 24.2 ($SCH_2CH_2N^+$),

26.0 (SiCH₂CH₂S), 31.5 (N₃CH₂CH₂CH₂CH₂Si), 41.3 (-NMe₂H⁺), 49.7 (N₃CH₂), 55.2 (CH₂N⁺). RMN-¹⁵N (DMSO-d₆): -338.4 (-NMe₂H⁺). RMN-²⁹Si (DMSO-d₆): δ 1.0 (G₂-SiMe), 2.4 (G₃-SiMe). Anal. Calc. C₇₇H₁₈₅Cl₈N₁₁S₈Si₇ (2002.10 g/mol): C, 46.19; H, 9.31; N, 7.70; S, 12.81; Obt.: C, 45.74; H, 9.27; N, 7.06; S, 12.17.

PhtG₁(S-NMe₂·HCl)₂ (90)

Datos: **78** (0.303 g, 1.01 mmol), hidrocloreuro de 2-(dimetilamino)etanotiol (0.287 g, 2.02 mmol) y DMPA (0.052 g, 0.20 mmol). Sólido blanco (0.458 g, 78 %).

RMN-¹H (DMSO-d₆): δ 0.00 (s, 3 H, SiMe), 0.60 (m, 2 H, CH₂SiC₂H₄S), 0.85 (m, 4 H, SiCH₂CH₂S). 1.28 (m, 2 H, NCH₂CH₂CH₂CH₂Si), 1.60 (m, 2 H, NCH₂CH₂CH₂CH₂Si), 2.58 (m, 4 H, SiCH₂CH₂S), 2.73 (s, 12 H, NMe₂H⁺), 2.86 (m, 4 H, SCH₂CH₂N⁺), 3.16 (m, 4 H, SCH₂CH₂N⁺), 3.56 (m, 2 H, N-CH₂), 7.84 (m, 4 H, C₆H₄), 10.79 (sa, 2 H, -NMe₂H⁺). RMN-¹³C{¹H} (DMSO-d₆): δ -5.9 (SiCH₃), 11.9 (NCH₂CH₂CH₂CH₂Si), 13.4 (SiCH₂CH₂S), 20.2 (NCH₂CH₂CH₂CH₂Si), 24.0 (SCH₂CH₂N⁺), 25.9 (SiCH₂CH₂S), 31.0 (NCH₂CH₂CH₂CH₂Si), 36.5 (NCH₂), 41.2 (-NMe₂H⁺), 55.2 (CH₂N⁺), 122.5 y 133.9 (C₆H₄, C-H), 131.1 (C₆H₄, C_{ipso}), 167.5 (C=O). RMN-¹⁵N (DMSO-d₆): δ -338.9 (-NMe₂H⁺), -217.9 ((CO)₂NCH₂). RMN-²⁹Si (DMSO-d₆): δ 3.0 (G₁-SiMe). ESI: [M-HCl-Cl]⁺ = 510.26 uma (calc. = 510.26 uma). Anal. Calc. C₂₅H₄₅Cl₂N₃O₂S₂Si (582.77 g/mol): C, 51.52; H, 7.78; N, 7.21; S, 11.00; Obt.: C, 50.87; H, 7.94; N, 6.69; S, 11.80.

PhtG₂(S-NMe₂·HCl)₄ (91)

Datos: **79** (0.208 g, 0.40 mmol), hidrocloreuro de 2-(dimetilamino)etanotiol (0.260 g, 1.74 mmol) y DMPA (0.020 g, 0.08 mmol). Sólido blanco (0.364 g, 84 %).

RMN-¹H (DMSO-d₆): δ -0.10 (s, 3 H, SiMe), 0.01 (s, 6 H, SiMe), 0.51 (m, 6 H, SiCH₂CH₂CH₂Si y NCH₂CH₂CH₂CH₂Si), 0.58 (t, J = 7.9 Hz, 4 H, CH₂SiC₂H₄S), 0.84 (t, J = 8.6 Hz, 8 H, SiCH₂CH₂S). 1.27 (m, 6 H,

SiCH₂CH₂CH₂Si y NCH₂CH₂CH₂CH₂Si), 1.60 (m, 2 H, NCH₂CH₂CH₂CH₂Si), 2.58 (t, J = 7.9 Hz, 8 H, SiCH₂CH₂S), 2.70 (s, 24 H, NMe₂H⁺), 2.86 (t, J = 7.8 Hz, 8 H, SCH₂CH₂N⁺), 3.15 (t, J = 7.9 Hz, 8 H, SCH₂CH₂N⁺), 3.56 (t, J = 7.6 Hz, 2 H, N-CH₂), 7.84 (m, 4 H, C₆H₄). RMN-¹³C{¹H} (DMSO-d₆): δ -5.7 (SiCH₃), -5.4 (SiCH₃), 12.4 (NCH₂CH₂CH₂CH₂Si), 13.5 (SiCH₂CH₂S), 17.2–17.6 (SiCH₂CH₂CH₂Si), 20.3 (NCH₂CH₂CH₂CH₂Si), 24.2 (SCH₂CH₂N⁺), 26.0 (SiCH₂CH₂S), 31.1 (NCH₂CH₂CH₂CH₂Si), 36.6 (NCH₂), 41.3 (-NMe₂H⁺), 55.2 (CH₂N⁺), 122.5 y 134.0 (C₆H₄, C-H), 131.0 (C₆H₄, C_{ipso}), 167.5 (C=O). RMN-¹⁵N (DMSO-d₆): -339.1 (-NMe₂H⁺), -217.7 ((CO)₂NCH₂). RMN-²⁹Si (DMSO-d₆): δ 1.8 (G₁-SiMe), 2.4 (G₂-SiMe). ESI: [M-Cl]⁺ = 1052.4 uma (calcd. = 1052.5 uma). Anal. Calcd. C₄₅H₉₃Cl₄N₅O₂S₄Si₃ (1090.58 g/mol): C, 49.56; H, 8.60; N, 6.42; S, 11.76; Obt.: C, 49.15; H, 8.55; N, 6.56; S, 11.30.

PhtG₃(S-NMe₂·HCl)₈ (92)

Datos: **80** (0.509 g, 0.52 mmol), hidrocloreuro de 2-(dimetilamino)etanotiol (0.686 g, 4.60 mmol) y DMPA (0.107 g, 0.42 mmol). Sólido blanco (0.107 g, 81 %).

RMN-¹H (DMSO-d₆): δ -0.12 (s, 9 H, SiMe), 0.00 (s, 12 H, SiMe), 0.50 (m, 18 H, SiCH₂CH₂CH₂Si y NCH₂CH₂CH₂CH₂Si), 0.57 (t, J = 7.9 Hz, 8 H, CH₂SiC₂H₄S), 0.85 (t, J = 8.0 Hz, 16 H, SiCH₂CH₂S). 1.27 (m, 14 H, SiCH₂CH₂CH₂Si y NCH₂CH₂CH₂CH₂Si), 1.60 (m, 2 H, NCH₂CH₂CH₂CH₂Si), 2.58 (t, J = 8.5 Hz, 16 H, SiCH₂CH₂S), 2.66 (s, 48 H, -NMe₂H⁺), 2.82 (t, J = 7.5 Hz, 16 H, SCH₂CH₂N⁺), 3.15 (t, J = 7.9 Hz, 16 H, SCH₂CH₂N⁺), 3.55 (t, J = 7.6 Hz, 2 H, N-CH₂), 7.84 (m, 4 H, C₆H₄). RMN-¹³C{¹H} (DMSO-d₆): δ -5.7 (SiCH₃), -5.3 (SiCH₃), 12.6 (NCH₂CH₂CH₂CH₂Si), 13.6 (SiCH₂CH₂S), 17.3–17.7 (SiCH₂CH₂CH₂Si), 20.3 (NCH₂CH₂CH₂CH₂Si), 24.7 (SCH₂CH₂N⁺), 26.1 (SiCH₂CH₂S), 31.2 (NCH₂CH₂CH₂CH₂Si), 36.6 (NCH₂), 41.7 (-NMe₂H⁺), 55.7 (CH₂N⁺), 122.4 y 133.8 (C₆H₄, C-H), 131.0 (C₆H₄, C_{ipso}), 167.3 (C=O). RMN-¹⁵N (DMSO-d₆): -339.1 (-NMe₂H⁺). RMN-²⁹Si (DMSO-d₆): δ 1.0 (G₂-SiMe), 2.4 (G₃-SiMe). ESI: [M-2Cl-2HCl]²⁺ = 979.4 uma (calcd. = 979.0 uma); [M-5Cl-2HCl]⁵⁺ = 371.1 uma (calcd. = 370.6 uma). Anal. Calc. C₈₅H₁₈₉Cl₈N₉O₂S₈Si₇

(2106.21 g/mol): C, 48.47; H, 9.04; N, 5.99; S, 12.18; Obt.: C, 47.94; H, 9.20; N, 6.20; S, 11.63.

HOC₆H₄OG₁(S-NMe₂·HCl)₂ (93)

Datos: **81** (0.490 g, 1.87 mmol), hidrocloreuro de 2-(dimetilamino)etanotiol (0.557 g, 3.74 mmol) y DMPA (0.010 g, 0.37 mmol). Sólido blanco (0.744 g, 73 %).

RMN-¹H (DMSO-d₆): δ 0.01 (s, 3 H, SiMe), 0.56 (m, 2 H, OCH₂CH₂CH₂CH₂Si), 0.86 (t, J_a = 8.3 Hz, 4 H, SiCH₂CH₂S), 1.31 (m, 2 H, OCH₂CH₂CH₂CH₂Si), 1.66 (m, 2 H, OCH₂CH₂CH₂CH₂Si), 2.59 (t, J_a = 9.0 Hz, 4 H, SiCH₂CH₂S), 2.70 (s, 12 H, -NMe₂H⁺), 2.86 (t, J_b = 8.0 Hz, 2 H, SCH₂CH₂N⁺), 3.16 (t, J_b = 8.0 Hz, 2 H, SCH₂CH₂N⁺), 3.82 (t, J_c = 6.3 Hz, 2 H, OCH₂), 6.68 (m, 4H, C₆H₄O₂). RMN-¹³C{¹H} (DMSO-d₆): δ -5.4 (SiCH₃), 12.7 (OCH₂CH₂CH₂CH₂Si), 13.5 (SiCH₂CH₂S), 19.6 (OCH₂CH₂CH₂CH₂Si), 24.3 (SCH₂CH₂N⁺), 26.0 (SiCH₂CH₂S), 32.2 (OCH₂CH₂CH₂CH₂Si), 41.4 (-NMe₂H⁺), 55.3 (SCH₂CH₂N⁺), 67.0 (OCH₂), 114.8 y 115.2 (C₆H₄O₂; C-H), 150.6 y 150.9 (C₆H₄O₂; C-O). RMN-¹⁵N (DMSO-d₆): δ -338.2 (-NMe₂H⁺). RMN-²⁹Si (DMSO-d₆): δ 3.0 (G₁-SiMe). ESI: [M-HCl-Cl]⁺ = 476.27 uma (calcd 476.27 uma). Anal. Calcd C₂₃H₄₆Cl₂N₂O₂S₂Si (545.75 g/mol): C, 50.62; H, 8.50; N, 5.13; S, 11.75. Obt.: C, 50.78; H, 8.37; N, 4.95; S, 12.02.

HOC₆H₄OG₂(S-NMe₂·HCl)₄ (94)

Datos: **82** (0.400 g, 0.82 mmol), hidrocloreuro de 2-(dimetilamino)etanotiol (0.539 g, 3.62 mmol) y DMPA (0.084 g, 0.33 mmol). Sólido blanco (0.604 g, 70 %).

RMN-¹H (DMSO-d₆): δ -0.07 (s, 3 H, SiMe), 0.01 (s, 6 H, SiMe), 0.56 (m, 10 H, SiCH₂CH₂CH₂Si y OCH₂CH₂CH₂CH₂Si), 0.86 (t, J_a = 8.3 Hz, 8 H, SiCH₂CH₂S), 1.31 (m, 6 H, SiCH₂CH₂CH₂Si y OCH₂CH₂CH₂CH₂Si), 1.66 (m, 2 H, OCH₂CH₂CH₂CH₂Si), 2.59 (t, J_a = 9.0 Hz, 8 H, SiCH₂CH₂S), 2.70 (s, 24 H, -NMe₂H⁺), 2.86 (t, J_b = 8.0 Hz, 8 H, SCH₂CH₂N⁺), 3.16 (t, J_b = 8.0 Hz, 8 H, SCH₂CH₂N⁺), 3.82 (t, J_c = 6.3 Hz, 2 H, OCH₂), 6.68 (m, 4H, C₆H₄O₂). RMN-

$^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ (DMSO- d_6): δ -5.7 (SiCH₃), -5.4 (SiCH₃), 12.7 (OCH₂CH₂CH₂CH₂Si), 13.5 (SiCH₂CH₂S), 17.2, 17.4 y 17.6 (SiCH₂CH₂CH₂Si), 19.6 (OCH₂CH₂CH₂CH₂Si), 24.3 (SCH₂CH₂N⁺), 26.0 (SiCH₂CH₂S), 32.2 (OCH₂CH₂CH₂CH₂Si), 41.4 (-NMe₂H⁺), 55.3 (S-CH₂CH₂N⁺), 67.0 (OCH₂), 114.8 y 115.2 (C₆H₄O₂; C-H), 150.6 y 150.9 (C₆H₄O₂; C-O). RMN- ^{15}N (DMSO- d_6): δ -338.2 (-NMe₂H⁺). RMN- ^{29}Si (DMSO- d_6): δ 1.8 (G₁-SiMe), 2.4 (G₂-SiMe). Anal. Calcd. C₄₃H₉₄Cl₄N₄O₂S₄Si₃ (1053.56 g/mol): C, 49.02; H, 8.99; N, 5.32; S, 12.17; Obt.: C, 47.97; H, 8.47; N, 5.09; S, 11.58.

HOC₆H₄OG₃(S-NMe₂·HCl)₈ (95)

Datos: **83** (0.228 g, 0.24 mmol), hidrocloreuro de 2-(dimetilamino)etanotiol (0.320 g, 2.14 mmol) y DMPA (0.050 g, 0.20 mmol). Sólido blanco (0.410 g, 81 %).

RMN- ^1H (DMSO- d_6): δ -0.05 (s, 9 H, SiMe), 0.01 (s, 12 H, SiMe), 0.53 (m, 26 H, SiCH₂CH₂CH₂Si y OCH₂CH₂CH₂CH₂Si), 0.86 (t, J_a = 7.6 Hz, 16 H, SiCH₂CH₂S), 1.29 (m, 12 H, SiCH₂CH₂CH₂Si y OCH₂CH₂CH₂CH₂Si), 1.65 (m, 2 H, OCH₂CH₂CH₂CH₂Si), 2.60 (t, J_a = 9.0 Hz, 8 H, SiCH₂CH₂S), 2.71 (s, 48 H, -NMe₂H⁺), 2.86 (t, J_b = 7.9 Hz, 16 H, SCH₂CH₂N⁺), 3.17 (t, J_b = 8.0 Hz, 16 H, SCH₂CH₂N⁺), 3.82 (t, J_c = 6.0 Hz, 2 H, OCH₂), 6.68 (m, 4 H, C₆H₄O₂). RMN- $^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ (DMSO- d_6): δ -5.7 (SiMe), -5.2 (SiMe), 12.8 (OCH₂CH₂CH₂CH₂Si), 13.6 (SiCH₂CH₂S), 17.3–17.8 (SiCH₂CH₂CH₂Si), 19.6 (OCH₂CH₂CH₂CH₂Si), 24.3 (SCH₂CH₂N⁺), 26.0 (SiCH₂CH₂S), 32.2 (OCH₂CH₂CH₂CH₂Si), 41.4 (-NMe₂H⁺), 55.3 (SCH₂CH₂N⁺), 67.0 (OCH₂), 114.7 y 115.1 (C₆H₄O₂; C-H), 150.6 y 150.8 (C₆H₄O₂; C-O). RMN- ^{15}N (DMSO- d_6): δ -338.2 (-NMe₂H⁺). RMN- ^{29}Si (DMSO- d_6): δ 1.0 (G₂-SiMe), 1.8 (G₁-SiMe), 2.4 (G₃-SiMe). ESI: [M-7HCl-Cl]⁺ = 1776.1 uma (calcd. = 1776.1 uma). Anal. Calcd. C₈₃H₁₉₀Cl₈N₈O₂S₈Si₇ (2069.19 g/mol): C, 48.18; H, 9.26; N, 5.42; S, 12.40; Obt.: C, 47.36; H, 8.88; N, 5.13; S, 11.87.

HOC₂H₄OG₁(S-NMe₂·HCl)₂ (96)

Datos: **84** (0.181 g, 0.84 mmol), hidrocloreuro de 2-(dimetilamino)etanotiol (0.239 g, 1.69 mmol) y DMPA (0.043 g, 0.17 mmol). Sólido blanco (0.348 g, 100 %).

RMN-¹H (DMSO-d₆): δ 0.01 (s, 3 H, SiMe), 0.56 (t, J_a = 8.5 Hz, 2 H, OCH₂CH₂CH₂CH₂Si), 0.94 (t, J_a = 8.3 Hz, 4 H, SiCH₂CH₂S), 1.35 (m, 2 H, OCH₂CH₂CH₂CH₂Si), 1.57 (m, 2 H, OCH₂CH₂CH₂CH₂Si), 2.64 (t, J_a = 7.3 Hz, 4 H, SiCH₂CH₂S), 2.86 (s, 12 H, -NMe₂H⁺), 3.01 (t, J_b = 8.0 Hz, 4 H, SCH₂CH₂N⁺), 3.27 (t, J_b = 8.2 Hz, 4 H, SCH₂CH₂N⁺), 3.45 (t, 2 H, OCH₂CH₂CH₂), 3.49 (t, 2 H, HOCH₂CH₂, superpuestas), 3.71 (m, 2 H, HOCH₂). RMN-¹³C{¹H} (DMSO-d₆): δ -5.1 (SiMe), 13.2 (OCH₂CH₂CH₂CH₂Si), 14.4 (SiCH₂CH₂S), 20.3 (OCH₂CH₂CH₂CH₂Si), 25.4 (SCH₂CH₂N⁺), 27.7 (SiCH₂CH₂S), 33.2 (OCH₂CH₂CH₂CH₂Si), 42.9 (-NMe₂H⁺), 57.3 (SCH₂CH₂N⁺), 61.7 (HOCH₂CH₂O), 70.5 (OCH₂CH₂CH₂CH₂Si), 71.9 (HOCH₂CH₂O). RMN-¹⁵N (DMSO-d₆): -339.1 (-NMe₂H⁺). RMN-²⁹Si (DMSO-d₆): δ 3.0 (G₁-SiMe). ESI: [M-Cl-HCl]⁺ = 425.2 uma (calcd. = 425.3 uma), [M-Cl]⁺ = 461.2 uma (calcd. = 461.2 uma). Anal. Calcd: C₁₉H₄₆Cl₂N₂O₂S₂Si (497.70 g/mol): C, 45.85; H, 9.32; N, 5.63; S, 12.89; Obt.: C, 43.38; H, 9.55; N, 5.58; S, 12.28.

HOC₂H₄OG₂(S-NMe₂·HCl)₄ (97)

Datos: **85** (0.832 g, 1.90 mmol), hidrocloreuro de 2-(dimetilamino)etanotiol (1.074 g, 7.58 mmol) y DMPA (0.194 g, 0.76 mmol). Este producto no se aisló debido a que la nanofiltración no permitía la separación del tiol en exceso.


RMN-¹H (DMSO-d₆): δ -0.12 (s, 3 H, SiMe), 0.02 (s, 6 H, SiMe), 0.55 (m, 10 H, OCH₂CH₂CH₂CH₂Si y SiCH₂CH₂CH₂Si), 0.92 (t, 8 H, SiCH₂CH₂S), 1.32 (m, 6 H, OCH₂CH₂CH₂CH₂Si y SiCH₂CH₂CH₂Si), 1.58 (m, 2 H, OCH₂CH₂CH₂CH₂Si), 2.63 (m, 8 H, SiCH₂CH₂S), 2.85 (s, 24 H, -NMe₂H⁺), 3.00 (m, 8 H, SCH₂CH₂N⁺), 3.28 (m, 8 H, SCH₂CH₂N⁺), 3.44 (t, 2 H, OCH₂CH₂CH₂), 3.48 (t, 2 H, HOCH₂CH₂, superpuestas), 3.72 (m, 2 H, HOCH₂).

HOC₂H₄OG₃(S-NMe₂·HCl)₈ (98)

Datos: **86** (0.553 g, 0.62 mmol), hidrocloreuro de 2-(dimetilamino)etanotiol (0.713 g, 5.03 mmol) y DMPA (0.128 g, 0.50 mmol). Este producto no se aisló debido a que la nanofiltración no permitía la separación del tiol en exceso.

RMN-¹H (DMSO-d₆): δ -0.10 (s, 9 H, SiMe), 0.00 (s, 12 H, SiMe), 0.55 (m, 26 H, OCH₂CH₂CH₂CH₂Si y SiCH₂CH₂CH₂Si), 0.94 (t, 16 H, SiCH₂CH₂S), 1.34 (m, 12 H, OCH₂CH₂CH₂CH₂Si y SiCH₂CH₂CH₂Si), 1.56 (m, 2 H, OCH₂CH₂CH₂CH₂Si), 2.63 (m, 16 H, SiCH₂CH₂S), 2.87 (s, 48 H, -NMe₂H⁺), 3.02 (m, 16 H, SCH₂CH₂N⁺), 3.26 (m, 16 H, SCH₂CH₂N⁺), 3.44 (t, 2 H, OCH₂CH₂CH₂), 3.50 (t, 2 H, HOCH₂CH₂, superpuestas), 3.72 (m, 2 H, HOCH₂).

4.5.2.25 Dendrones con distintos puntos focales y grupos -NMe₂ terminales (99-110)



	Y = N ₃	Ph	HOC ₆ H ₄ O	HOC ₂ H ₄ O
n=1, m=2,	99	102	105	108
n=2, m=4,	100	103	106	109
n=3, m=8,	101	104	107	110

Método sintético 7.

N₃G₁(S-NMe₂)₂ (99)

Datos: **87** (0.218 g, 0.46 mmol) y Na₂CO₃ (0.145 g, 1.37 mmol). Aceite amarillento (0.174 g, 94 %).

RMN-¹H (CDCl₃): δ 0.01 (s, 3 H, SiMe), 0.56 (t, J_a = 8.5 Hz, 2 H, NCH₂CH₂CH₂CH₂Si), 0.90 (t, J_b = 9.4 Hz, 4 H, SiCH₂CH₂S), 1.36 (m, 2 H, NCH₂CH₂CH₂), 1.60 (m, 2 H, NCH₂CH₂), 2.24 (s, 12 H, -NMe₂), 2.50 (m, 4 H, SCH₂CH₂N), 2.56 (m, 4 H, SiCH₂CH₂S, superpuestas), 2.59 (m, 4 H, SCH₂CH₂N, superpuestas), 3.25 (t, J_c = 7.0, 2 H, NCH₂). RMN-¹³C{¹H} (CDCl₃): δ -5.4 (SiCH₃), 13.2 (N₃CH₂CH₂CH₂CH₂), 14.4 (SiCH₂CH₂S), 20.9 (N₃CH₂CH₂CH₂), 27.5 (SiCH₂CH₂S), 29.8 (SCH₂CH₂N), 32.5 (N₃CH₂CH₂), 45.3 (-NMe₂), 50.9 (N₃CH₂), 58.8 (SCH₂CH₂N). RMN-¹⁵N (CDCl₃): δ -352.1 (-NMe₂), -306.9 (N=N=N-CH₂), -131.5 (N=N=N-CH₂). RMN-²⁹Si (CDCl₃): δ 2.78 (G₁-SiMe). IR (KBr, cm⁻¹): 2095, ν(N₃). MALDI: [M+H]⁺ = 406.2 uma (calcd. =

406.2 uma). Anal. Calcd. $C_{17}H_{39}N_5S_2Si_7$ (405.74 g/mol): C, 50.32; H, 9.69; N, 17.26; S, 15.81; Exp.: C, 52.03; H, 10.95; N, 15.39; S, 15.35.

$N_3G_2(S-NMe_2)_4$ (100)

Datos: **88** (0.135 g, 0.14 mmol) y Na_2CO_3 (0.058 g, 0.55 mmol). Aceite amarillento (0.124 g, 98 %).

RMN- 1H ($CDCl_3$): δ -0.11 (s, 3 H, *SiMe*), 0.00 (s, 6 H, *SiMe*), 0.55 (m, 10 H, $NCH_2CH_2CH_2CH_2Si$ y $SiCH_2CH_2CH_2Si$), 0.86 (t, $J_a = 8.7$ Hz, 8 H, $SiCH_2CH_2S$), 1.34 (m, 6 H, $NCH_2CH_2CH_2$ y $SiCH_2CH_2CH_2Si$), 1.58 (m, 2 H, NCH_2CH_2), 2.22 (s, 24 H, NMe_2), 2.45 (m, 8 H, SCH_2CH_2N), 2.52 (m, 8 H, $SiCH_2CH_2S$, superpuestas), 2.60 (m, 8 H, SCH_2CH_2N , superpuestas), 3.24 (t, $J_c = 6.8$, 2 H, NCH_2). RMN- $^{13}C\{^1H\}$ ($CDCl_3$): δ -5.4 y -5.2 ($SiCH_3$), 13.4 ($NCH_2CH_2CH_2CH_2$), 14.6 ($SiCH_2CH_2S$), 18.2, 18.4 y 18.6 ($SiCH_2CH_2CH_2Si$), 21.1 ($NCH_2CH_2CH_2$), 27.6 ($SiCH_2CH_2S$), 29.8 (SCH_2CH_2N), 32.6 (NCH_2CH_2), 45.3 ($-NMe_2$), 51.0 (NCH_2), 59.2 (SCH_2CH_2N). RMN- ^{15}N ($CDCl_3$): δ -352.0 ($-NMe_2$), -306.8 ($N=N=N-CH_2$), -131.4 ($N=N=N-CH_2$). RMN- ^{29}Si ($CDCl_3$): δ 1.5 (G_1-SiMe), 1.9 (G_3-SiMe). Masas: $[M+2H]^{2+} = 420.76$ uma (calcd. = 420.76 uma), $[M+H+NH_4]^{2+} = 428.75$ uma (calcd. = 428.76 uma). IR (KBr, cm^{-1}): 2093, $\nu(N_3)$. Anal. Calcd. $C_{37}H_{85}N_7S_4Si_3$ (840.63 g/mol): C, 52.86; H, 10.19; N, 11.66; S, 15.26; Exp.: C, 52.70; H, 9.77; N, 10.93; S, 13.96.

$N_3G_3(S-NMe_2)_8$ (101)

Datos: **89** (0.487 g, 0.24 mmol) y Na_2CO_3 (0.265 g, 2.50 mmol). Aceite amarillento (0.362 g, 88 %).

RMN- 1H ($CDCl_3$): δ -0.11 (s, 9 H, *SiMe*), 0.00 (s, 12 H, *SiMe*), 0.51 (m, 24 H, $NCH_2CH_2CH_2CH_2Si$ y $SiCH_2CH_2CH_2Si$), 0.88 (t, $J_a = 8.8$ Hz, 16 H, $SiCH_2CH_2S$), 1.26 (m, 12 H, $NCH_2CH_2CH_2$ y $SiCH_2CH_2CH_2Si$), 1.59 (m, 2 H, NCH_2CH_2), 2.23 (s, 48 H, $-NMe_2$), 2.48 (m, 16 H, SCH_2CH_2N), 2.53 (m, 16 H, $SiCH_2CH_2S$, superpuestas), 2.60 (m, 16 H, SCH_2CH_2N , superpuestas), 3.24 (t, $J_c = 6.7$, 2 H, NCH_2). RMN- $^{13}C\{^1H\}$ ($CDCl_3$): δ -5.2 y -5.0 ($SiCH_3$), 13.6

(NCH₂CH₂CH₂CH₂), 14.7 (SiCH₂CH₂S), 18.4-18.9 (SiCH₂CH₂CH₂Si), 21.2 (NCH₂CH₂CH₂), 27.7 (SiCH₂CH₂S), 29.8 (SCH₂CH₂N), 32.6 (NCH₂CH₂), 45.4 (-NMe₂), 51.0 (NCH₂), 59.3 (SCH₂CH₂N). RMN-¹⁵N (CDCl₃): δ -352.2 (-NMe₂), -307.0 (N=N=N-CH₂), -131.6 (N=N=N-CH₂). RMN-²⁹Si (CDCl₃): δ 0.9 (G₂-SiMe), 1.6 (G₁-SiMe), 2.0 (G₃-SiMe). IR (KBr, cm⁻¹): 2094, ν(N₃). Anal. Calcd. C₇₇H₁₇₇N₁₁S₈Si₇ (1710.42 g/mol): C, 54.07; H, 10.43; N, 9.01; Exp.: C, 54.61; H, 9.82; N, 8.32.

PhtG₁(S-NMe₂)₂ (102)

Datos: **90** (0.571 g, 0.98 mmol) y Na₂CO₃ (0.208 g, 1.96 mmol). Aceite amarillento (0.418 g, 84 %).

RMN-¹H (CDCl₃): δ -0.06 (s, 3 H, SiMe), 0.56 (t, J_a = 8.2 Hz, 2 H, NCH₂CH₂CH₂CH₂Si), 0.82 (t, J_b = 8.7 Hz, 4 H, SiCH₂CH₂S), 1.26 (m, 2 H, NCH₂CH₂CH₂), 1.62 (m, 2 H, NCH₂CH₂), 2.17 (s, 12 H, -NMe₂), 2.43 (m, 4 H, SCH₂CH₂N), 2.50 (m, 4 H, SiCH₂CH₂S, superpuestas), 2.54 (m, 4 H, SCH₂CH₂N, superpuestas), 3.59 (t, J_c = 7.3 Hz, 2 H, NCH₂), 7.64 y 7.76 (m, 4 H, C₆H₄, C-H). RMN-¹³C{¹H} (CDCl₃): δ -5.5 (SiCH₃), 13.0 (NCH₂CH₂CH₂CH₂), 14.3 (SiCH₂CH₂S), 20.9 (NCH₂CH₂CH₂), 27.4 (SiCH₂CH₂S), 29.6 (SCH₂CH₂N), 32.1 (NCH₂CH₂), 37.3 (NCH₂), 45.2 (-NMe₂), 59.1 (SCH₂CH₂N), 123.0 (C₆H₄, C-H), 132.0 (C₆H₄, C_{ipso}), 133.7 (C₆H₄, C-H), 168.2 (C=O). RMN-¹⁵N (CDCl₃): δ -353.1 (-NMe₂) -216.5 (NCH₂). IR (KBr, cm⁻¹): 1718 y 1772, ν(C=O). Masas: [M+H]⁺ = 510.3 uma (calcd. = 510.3 uma). Anal. Calcd. C₂₅H₄₃N₃O₂S₂Si (509.84 g/mol): C, 58.89; H, 8.50; N, 8.24; S, 12.58; Exp.: C, 57.55; H, 8.48; N, 7.26; S, 10.19.

PhtG₂(S-NMe₂)₄ (103)

Datos: **91** (1.202 g, 1.10 mmol) y Na₂CO₃ (0.467 g, 4.41 mmol). Aceite amarillento (0.943 g, 90 %).

RMN-¹H (CDCl₃): δ -0.11 (s, 3 H, SiMe), 0.00 (s, 6 H, SiMe), 0.49 (m, 8 H, SiCH₂CH₂CH₂Si), 0.56 (m, 2 H, NCH₂CH₂CH₂CH₂Si, superpuestas), 0.85 (m,

8 H, SiCH₂CH₂S), 1.22 (m, 6 H, NCH₂CH₂CH₂ y SiCH₂CH₂CH₂Si), 1.64 (m, 2 H, NCH₂CH₂), 2.20 (s, 24 H, -NMe₂), 2.47 (m, 8 H, SCH₂CH₂N), 2.51 (m, 8 H, SiCH₂CH₂S, superpuestas), 2.59 (m, 8 H, SCH₂CH₂N, superpuestas), 3.63 (m, 2 H, NCH₂), 7.67 y 7.80 (m, 4 H, C₆H₄, C-H). RMN-¹³C{¹H} (CDCl₃): δ -5.4 y -5.2 (SiCH₃), 13.4 (NCH₂CH₂CH₂CH₂), 14.6 (SiCH₂CH₂S), 18.2, 18.3 y 18.6 (SiCH₂CH₂CH₂Si), 21.2 (NCH₂CH₂CH₂), 27.6 (SiCH₂CH₂S), 29.8 (SCH₂CH₂N), 32.3 (NCH₂CH₂), 37.6 (NCH₂), 45.3 (-NMe₂), 59.2 (SCH₂CH₂NMe₂), 123.1 (C₆H₄, C-H), 132.1 (C₆H₄, C_{ipso}), 133.8 (C₆H₄, C-H), 168.3 (C=O). RMN-¹⁵N (CDCl₃): δ -353.1 (-NMe₂) -216.5 (NCH₂). RMN-²⁹Si (CDCl₃): δ 1.6 (G₁-SiMe), 2.0 (G₂-SiMe). IR (KBr, cm⁻¹): 1717 y 1773, ν(C=O). Anal. Calcd. C₄₅H₈₉N₅O₂S₄Si₃ (944.74 g/mol): C, 57.21; H, 9.50; N, 7.41; S, 13.58; Exp.: C, 56.42; H, 8.74; N, 6.21; S, 11.55.

PhtG₃(S-NMe₂)₈ (104)

Datos: **92** (0.527 g, 0.25 mmol) y Na₂CO₃ (0.212 g, 2.00 mmol). Aceite amarillento (0.380 g, 84 %).

RMN-¹H (CDCl₃): δ -0.11 (s, 9 H, SiMe), 0.00 (s, 12 H, SiMe), 0.52 (m, 16 H, SiCH₂CH₂CH₂Si), 0.60 (m, 10 H, NCH₂CH₂CH₂CH₂Si y CH₂SiC₂H₄, superpuestas), 0.88 (m, 16 H, SiCH₂CH₂S), 1.27 (m, 14 H, NCH₂CH₂CH₂ y SiCH₂CH₂CH₂Si), 1.66 (m, 2 H, NCH₂CH₂), 2.23 (s, 48 H, -NMe₂), 2.46 (m, 16 H, SCH₂CH₂N), 2.54 (m, 16 H, SiCH₂CH₂S, superpuestas), 2.61 (m, 16 H, SCH₂CH₂N, superpuestas), 3.65 (m, 2 H, NCH₂), 7.70 y 7.81 (m, 4 H, C₆H₄, C-H). RMN-¹³C{¹H} (CDCl₃): δ -5.4 y -5.3 (SiCH₃), 13.5 (NCH₂CH₂CH₂CH₂Si), 14.7 (SiCH₂CH₂S), 18.3-18.7 (SiCH₂CH₂CH₂Si), 21.3 (NCH₂CH₂CH₂CH₂Si), 27.7 (SiCH₂CH₂S), 29.9 (SCH₂CH₂N), 32.4 (NCH₂CH₂CH₂CH₂Si), 37.7 (NCH₂CH₂CH₂CH₂Si), 45.3 (-NMe₂), 59.2 (SCH₂CH₂N), 123.1 y 133.7 (C₆H₄, C-H), 132.1 (C₆H₄, C_{ipso}), 168.3 (C=O). RMN-¹⁵N (CDCl₃): δ -353.1 (-NMe₂). RMN-²⁹Si (CDCl₃): δ 1.0 (G₂-SiMe), 1.9 (G₃-SiMe). IR (KBr, cm⁻¹): 1718 y 1772, ν(C=O). Anal. Calcd. C₈₅H₁₈₁N₉O₂S₈Si₇ (1814.52 g/mol): C, 56.26; H, 10.05; N, 6.95; S, 14.14; Exp.: C, 56.57; H, 10.94; N, 6.78; S, 14.01.

HOC₆H₄OG₁(S-NMe₂)₂ (105)

Datos: **93** (0.498 g, 0.91 mmol) y Na₂CO₃ (0.193 g, 1.82 mmol). Aceite amarillento (0.449 g, 96 %).

RMN-¹H (CDCl₃): δ -0.02 (s, 3 H, *SiMe*), 0.53 (m, 2 H, OCH₂CH₂CH₂CH₂Si), 0.83 (t, J_a = 8.7 Hz, 4 H, SiCH₂CH₂S), 1.41 (m, 2 H, OCH₂CH₂CH₂), 1.71 (m, 2 H, OCH₂CH₂), 2.26 (s, 12 H, -NMe₂), 2.46 (m, 4 H, SCH₂CH₂N), 2.50 (m, 4 H, SiCH₂CH₂S, superpuestas), 2.56 (m, 4 H, SCH₂CH₂N, superpuestas), 3.92 (t, J_b = 7.0 Hz, 2 H, OCH₂), 6.69 y 6.74 (m, 4 H, C₆H₄, C-H). RMN-¹³C{¹H} (CDCl₃): δ -5.3 (SiCH₃), 13.0 (OCH₂CH₂CH₂CH₂), 14.5 (SiCH₂CH₂S), 20.1 (OCH₂CH₂CH₂), 27.6 (SiCH₂CH₂S), 29.5 (SCH₂CH₂N), 32.9 (OCH₂CH₂), 45.2 (-NMe₂), 59.2 (SCH₂CH₂N), 67.9 (OCH₂), 115.9 y 116.7 (C₆H₄, C-H), 150.3 y 152.7 (C₆H₄, C_{ipso}-O). RMN-¹⁵N (CDCl₃): δ -352.1 (-NMe₂). RMN-²⁹Si (CDCl₃): δ 2.3 (G₁-*SiMe*). Masas: [M+H]⁺ = 473.1 uma (calcd. = 473.3 uma). Anal. Calcd. C₂₃H₄₄N₂O₂S₂Si (472.82 g/mol): C, 58.42; H, 9.38; N, 5.92; S, 13.56; Exp.: C, 56.87; H, 8.99; N, 6.56; S, 12.65.

HOC₆H₄OG₂(S-NMe₂)₄ (106)

Datos: **94** (0.996 g, 0.94 mmol) y Na₂CO₃ (0.200 g, 1.89 mmol). Aceite amarillento (0.686 g, 80 %).

RMN-¹H (CDCl₃): δ -0.11 (s, 3 H, *SiMe*), -0.04 (s, 6 H, *SiMe*), 0.52 (m, 10 H, SiCH₂CH₂CH₂Si y OCH₂CH₂CH₂CH₂Si), 0.83 (t, J_a = 8.6 Hz, 8 H, SiCH₂CH₂S), 1.24 (m, 4 H, SiCH₂CH₂CH₂Si), 1.42 (m, 2 H, OCH₂CH₂CH₂), 1.71 (m, 2 H, OCH₂CH₂), 2.24 (s, 24 H, -NMe₂), 2.47 (m, 8 H, SCH₂CH₂N), 2.50 (m, 8 H, SiCH₂CH₂S, superpuestas), 2.60 (m, 8 H, SCH₂CH₂N, superpuestas), 3.88 (m, 2 H, OCH₂), 6.66 y 6.71 (m, 4 H, C₆H₄, C-H). RMN-¹³C{¹H} (CDCl₃): δ -5.3 y -5.0 (SiCH₃), 14.6 (OCH₂CH₂CH₂CH₂), 14.7 (SiCH₂CH₂S), 18.3, 18.4 y 18.7 (SiCH₂CH₂CH₂Si), 20.1 (OCH₂CH₂CH₂), 27.7 (SiCH₂CH₂S), 29.8 (SCH₂CH₂N), 30.9 (OCH₂CH₂), 45.4 (SiCH₂CH₂NMe₂), 59.3 (SCH₂CH₂N), 67.7 (OCH₂), 115.8 y 116.5 (C₆H₄, C-H), 150.8 y 152.4 (C₆H₄, C_{ipso}-O). RMN-¹⁵N

(CDCl₃): δ -352.0 (-NMe₂). RMN-²⁹Si (CDCl₃): δ 1.5 (G₁-SiMe), 1.9 (G₂-SiMe). Anal. Calcd. C₄₃H₉₀N₄O₂S₄Si₃ (907.72 g/mol): C, 56.90; H, 9.99; N, 6.17; S, 14.13; Exp.: C, 55.46; H, 8.83; N, 5.74; S, 13.21.

HOC₆H₄OG₃(S-NMe₂)₈ (107)

Datos: **95** (0.504 g, 0.24 mmol) y Na₂CO₃ (0.103 g, 0.98 mmol). Aceite amarillento (0.349 g, 80 %).

RMN-¹H (CDCl₃): δ -0.07 (s, 9 H, SiMe), 0.02 (s, 12 H, SiMe), 0.58 (Im, 26 H, SiCH₂CH₂CH₂Si y OCH₂CH₂CH₂CH₂Si), 0.90 (t, J_a = 8.6 Hz, 16 H, SiCH₂CH₂S), 1.30 (m, 12 H, SiCH₂CH₂CH₂Si), 1.45 (m, 2 H, OCH₂CH₂CH₂), 1.78 (m, 2 H, OCH₂CH₂), 2.28 (s, 48 H, -NMe₂), 2.53 (m, 16 H, SCH₂CH₂N), 2.54 (m, 16 H, SiCH₂CH₂S, superpuestas), 2.65 (m, 16 H, SCH₂CH₂N, superpuestas), 3.91 (t, J_b = 6.1 Hz, 2 H, OCH₂), 6.69 y 6.75 (m, 4 H, C₆H₄, C-H). RMN-¹³C{¹H} (CDCl₃): δ -5.3 y -5.0 (SiCH₃), 13.5 (OCH₂CH₂CH₂CH₂), 14.6 (SiCH₂CH₂S), 18.3-18.8 (SiCH₂CH₂CH₂Si), 20.5 (OCH₂CH₂CH₂), 27.6 (SiCH₂CH₂S), 29.7 (SCH₂CH₂N), 33.1 (OCH₂CH₂), 45.3 (SiCH₂CH₂NMe₂), 59.2 (SCH₂CH₂NMe₂), 68.2 (OCH₂), 115.6 y 116.3 (C₆H₄, C-H), 150.9 y 152.3 (C₆H₄, C_{ipso}-O). RMN-¹⁵N (CDCl₃): δ -352.2 (-NMe₂). RMN-²⁹Si (CDCl₃): δ 1.0 (G₂-SiMe), 1.9 (G₃-SiMe). Anal. Calcd. C₈₃H₁₈₂N₈O₂S₈Si₇ (1777.50 g/mol): C, 56.08; H, 10.32; N, 6.30; S, 14.43; Exp.: C, 54.78; H, 9.23; N, 5.78; S, 13.38.

HOC₂H₄OG₁(S-NMe₂)₂ (108)

Datos: **96** (0.289 g, 0.58 mmol) y Na₂CO₃ (0.123 g, 1.16 mmol). Aceite amarillento (0.217 g, 88 %).

RMN-¹H (CDCl₃): δ -0.04 (s, 3 H, SiMe), 0.51 (t, J_a = 8.5 Hz, 2 H, OCH₂CH₂CH₂CH₂Si), 0.85 (t, J_b = 8.8 Hz, 4 H, SiCH₂CH₂S), 1.31 (m, 2 H, OCH₂CH₂CH₂), 1.55 (m, 2 H, OCH₂CH₂), 2.19 (s, 12 H, NMe₂), 2.43 (m, 4 H, SCH₂CH₂N), 2.46 (m, 4 H, SiCH₂CH₂S, superpuestas), 2.58 (m, 4 H, SCH₂CH₂N, superpuestas), 3.41 (m, 2 H, OCH₂), 3.45 (m, 2 H, HOCH₂CH₂O, superpuestas), 3.65 (m, 2 H, HOCH₂CH₂O). RMN-¹³C{¹H} (CDCl₃): δ -5.4

(SiCH₃), 13.2 (OCH₂CH₂CH₂CH₂Si), 14.4 (SiCH₂CH₂S), 20.2 (OCH₂CH₂CH₂), 27.5 (SiCH₂CH₂S), 29.5 (SCH₂CH₂N), 33.3 (OCH₂CH₂), 45.2 (-NMe₂), 59.1 (SCH₂CH₂N), 61.6 (HOCH₂), 70.6 (OCH₂), 72.0 (HOCH₂CH₂O). RMN-¹⁵N (CDCl₃): δ -352.3 (-NMe₂). RMN-²⁹Si (CDCl₃): δ 2.7 (G₁-SiMe). Masas: [M+H]⁺ = 425.27 uma (calcd. = 425.27 uma). Anal. Calcd. C₁₉H₄₄N₂O₂S₂Si (424.78 g/mol): C, 53.72; H, 10.44; N, 6.59; S, 15.10; Exp.: C, 53.88; H, 10.31; N, 6.84; S, 16.27.

HOC₂H₄OG₂(S-NMe₂)₄ (109)

Datos: **97** (1.910 g, 1.90 mmol) y Na₂CO₃ (0.804 g, 7.58 mmol). Aceite amarillento (1.346 g, 82 %). Como no se pudo aislar el compuestos catiónico HOC₂H₄OG₂(S-NMe₂.HCl)₄ **82**, para eliminar el tiol en exceso se realiza una columna de cromatografía de exclusión por tamaños.

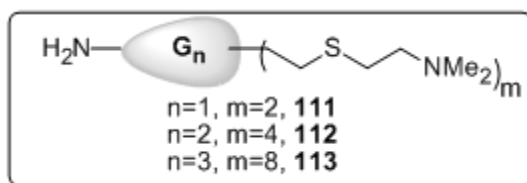
RMN-¹H (CDCl₃): δ -0.01 (s, 3 H, SiMe), 0.03 (s, 6 H, SiMe), 0.56 (m, 10 H, SiCH₂CH₂CH₂Si y OCH₂CH₂CH₂CH₂Si), 0.86 (t, J_a = 8.7 Hz, 8 H, SiCH₂CH₂S), 1.26 (m, 4 H, SiCH₂CH₂CH₂Si), 1.57 (m, 2 H, OCH₂CH₂CH₂), 1.81 (m, 2 H, OCH₂CH₂), 2.22 (s, 24 H, -NMe₂), 2.49 (m, 8 H, SCH₂CH₂N), 2.58 (m, 8 H, SiCH₂CH₂S, superpuestas), 2.60 (m, 8 H, SCH₂CH₂N, superpuestas), 3.44 (m, 2 H, OCH₂), 3.49 (m, 2 H, HOCH₂CH₂O, superpuestas), 3.68 (m, 2 H, HOCH₂CH₂O). RMN-¹³C{¹H} (CDCl₃): δ -5.3 y -5.1 (SiMe), 13.7 (OCH₂CH₂CH₂CH₂), 14.6 (SiCH₂CH₂S), 17.7-18.9 (SiCH₂CH₂CH₂Si), 20.5 (OCH₂CH₂CH₂), 27.7 (SiCH₂CH₂S), 29.8 (SCH₂CH₂N), 33.5 (OCH₂CH₂), 45.3 (-NMe₂), 59.2 (SCH₂CH₂N), 61.7 (HOCH₂), 71.0 (OCH₂), 71.9 (HOCH₂CH₂O). RMN-¹⁵N (CDCl₃): δ -352.3 (-NMe₂). RMN-²⁹Si (CDCl₃): δ 1.7 (G₁-SiMe), 2.0 (G₂-SiMe). Masas: [M+H]⁺ = 859.6 uma (calcd. = 859.5 uma). Anal. Calcd. C₃₉H₉₀N₄O₂S₄Si₃ (859.67 g/mol): C, 54.49; H, 10.55; N, 6.52; Exp.: C, 55.35; H, 9.77; N, 6.86.

HOC₂H₄OG₃(S-NMe₂)₈ (110)

Datos: **98** (1.259 g, 0.62 mmol) y Na₂CO₃ (0.528 g, 4.98 mmol). Aceite amarillento (0.631 g, 59 %).

RMN-¹H (CDCl₃): δ -0.10 (s, 9 H, *SiMe*), 0.00 (s, 12 H, *SiMe*), 0.52 (m, 26 H, SiCH₂CH₂CH₂Si y OCH₂CH₂CH₂CH₂Si), 0.88 (t, J_a = 8.6 Hz, 16 H, SiCH₂CH₂S), 1.28 (m, 12 H, SiCH₂CH₂CH₂Si), 1.59 (m, 2 H, OCH₂CH₂CH₂), 1.79 (m, 2 H, OCH₂CH₂), 2.23 (s, 48 H, NMe₂), 2.47 (m, 16 H, SCH₂CH₂N), 2.54 (m, 16 H, SiCH₂CH₂S, superpuestas), 2.62 (m, 16 H, SCH₂CH₂N, superpuestas), 3.46 (m, 2 H, OCH₂), 3.50 (m, 2 H, HOCH₂CH₂O, superpuestas), 3.70 (m, 2 H, HOCH₂CH₂O). RMN-¹³C{¹H} (CDCl₃): δ -5.2 y -5.0 (*SiMe*), 13.6 (OCH₂CH₂CH₂CH₂), 14.7 (SiCH₂CH₂S), 18.4-18.9 (SiCH₂CH₂CH₂Si), 20.6 (OCH₂CH₂CH₂), 27.7 (SiCH₂CH₂S), 29.8 (SCH₂CH₂N), 33.7 (OCH₂CH₂), 45.4 (-NMe₂), 59.3 (SCH₂CH₂N), 61.7 (HOCH₂), 71.1 (OCH₂), 72.0 (HOCH₂CH₂O). RMN-¹⁵N (CDCl₃): δ -352.1 (-NMe₂). RMN-²⁹Si (CDCl₃): δ 1.6 (G₁-*SiMe*), 1.0 (G₂-*SiMe*), 1.9 (G₃-*SiMe*). Masas: [M+Na]⁺ = 1749.9 uma (calcd. = 1750.0 uma), [M+H]⁺ = 1727.9 uma (calcd. = 1728.1 uma). Anal. Calcd. C₇₉H₁₈₂N₈O₂S₈Si₇ (1729.46 g/mol): C, 54.86; H, 10.61; N, 6.48; Exp.: C, 54.86; H, 9.42; N, 6.84.

4.5.2.26 Dendrones con grupos -NMe₂ terminales y un grupo amino primario en el punto focal (111-113)



En una ampolla se disuelve la cuña dendrítica precursora PhtG_n(S-NMe₂·HCl)_m (90-92) en MeOH y se adiciona un exceso del doble de hidracina hidrato (N₂H₄·xH₂O) con respecto al número de grupos amonio periféricos del compuesto bajo argón. La ampolla se sella y la mezcla de reacción se calienta a 80 °C durante una noche con agitación. Posteriormente, se evapora el MeOH y el exceso de hidracina en la línea de vacío y se extrae el producto deseado en diclorometano. Tras evaporar el disolvente se obtienen los compuestos NH₂G_n(S-NMe₂)_m (111-113) como aceites entre incoloros y amarillentos.

NH₂G₁(S-NMe₂)₂ (111)

Datos: **90** (0.141 g, 0.24 mmol) y N₂H₄ (0.03 ml, 0.96 mmol). Aceite amarillento (0.087 g, 95 %).

RMN-¹H (CDCl₃): δ -0.09 (s, 3 H, SiMe), 0.43 (t, J_a = 9.7 Hz, 2 H, NCH₂CH₂CH₂CH₂Si), 0.80 (t, J_b = 8.6 Hz, 4 H, SiCH₂CH₂S), 1.21 (m, 2 H, NCH₂CH₂CH₂CH₂Si), 1.38 (m, 2 H, NCH₂CH₂CH₂CH₂Si), 2.14 (s, 12 H, -NMe₂), 2.48 (m, 4 H, SCH₂CH₂N), 2.52 (m, 4 H, SiCH₂CH₂S), 2.57 (m, 4 H, SCH₂CH₂N), 2.55 (m, 2 H, NH₂CH₂). RMN-¹³C{¹H} (CDCl₃): δ -5.5 (SiCH₃), 13.2 (NCH₂CH₂CH₂CH₂Si), 14.3 (SiCH₂CH₂S), 20.9 (NCH₂CH₂CH₂CH₂Si), 27.4 (SiCH₂CH₂S), 29.6 (SCH₂CH₂N), 36.8 (NCH₂CH₂CH₂CH₂Si), 45.2 (-NMe₂), 59.0 (SCH₂CH₂N). RMN-¹⁵N (CDCl₃): δ -353.0 (-NMe₂). RMN-²⁹Si (CDCl₃): δ 2.5 (G₁-SiMe). Anal. Calcd. C₁₇H₄₁N₃S₂Si (379.74 g/mol): C, 53.77; H, 10.88; N, 11.07; S, 16.89; Obt.: C, 53.83; H, 10.20; N, 11.03; S, 16.13.

NH₂G₂(S-NMe₂)₄ (112)

Datos: **91** (0.364 g, 0.33 mmol) y N₂H₄ (0.08 ml, 2.72 mmol). Aceite amarillento (0.254 g, 93 %).

RMN-¹H (CDCl₃): δ -0.10 (s, 3 H, SiMe), 0.00 (s, 6 H, SiMe), 0.54 (m, 10 H, SiCH₂CH₂CH₂Si y NCH₂CH₂CH₂CH₂Si), 0.88 (t, J = 8.7 Hz, 8 H, SiCH₂CH₂S), 1.27 (m, 4 H, SiCH₂CH₂CH₂Si), 1.39 (m, 2 H, NCH₂CH₂CH₂CH₂Si), 1.65 (m, 2 H, NCH₂CH₂CH₂CH₂Si), 2.24 (s, 24 H, SCH₂CH₂NMe₂), 2.48 (m, 8 H, SCH₂CH₂N), 2.52 (m, 8 H, SiCH₂CH₂S), 2.57 (m, 8 H, SCH₂CH₂N), 2.65 (m, 2 H, NH₂CH₂). RMN-¹³C{¹H} (CDCl₃): δ -5.2 (SiCH₃), 13.7 (NCH₂CH₂CH₂CH₂Si), 14.6 (SiCH₂CH₂S), 18.3 – 18.6 (SiCH₂CH₂CH₂Si), 21.2 (NCH₂CH₂CH₂CH₂Si), 27.7 (SiCH₂CH₂S), 29.6 (SCH₂CH₂N), 37.8 (NCH₂CH₂CH₂CH₂Si), 41.9 (NH₂CH₂), 45.3 (SiCH₂CH₂NMe₂), 59.1 (SCH₂CH₂NMe₂). RMN-¹⁵N (CDCl₃): δ -353.2 (-NMe₂). RMN-²⁹Si (CDCl₃): δ 2.1 (G₂-SiMe), 1.8 (G₁-SiMe). MALDI: [M+H]⁺ = 815.5 uma (calcd. = 815.5 uma), [M+2H]²⁺ = 407.3 uma (calcd. = 408.8 uma). Anal.

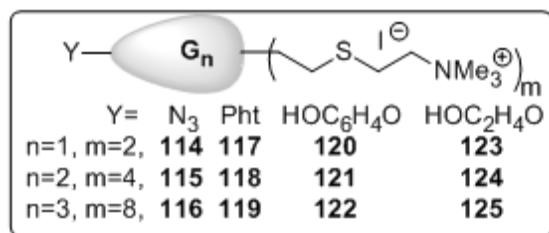
Calcd. C₃₇H₈₇N₅S₄Si₃ (814.64 g/mol): C, 54.55; H, 10.76; N, 8.60; S, 15.74; Obt.: C, 53.83; H, 10.24; N, 8.09; S, 15.10.

NH₂G₃(S-NMe₂)₈ (113)

Datos: **92** (0.422 g, 0.20 mmol) y N₂H₄ (0.10 ml, 3.21 mmol). Aceite amarillento (0.306 g, 91 %).

RMN-¹H (CDCl₃): δ -0.13 (s, 9 H, SiMe), -0.04 (s, 9 H, SiMe), 0.46 (m, 24 H, SiCH₂CH₂CH₂Si), 0.54 (m, 2 H, NCH₂CH₂CH₂CH₂Si), 0.83 (t, J = 8.7 Hz, 16 H, SiCH₂CH₂S), 1.23 (m, 12 H, SiCH₂CH₂CH₂Si), 1.40 (m, 2 H, NCH₂CH₂CH₂CH₂Si), 1.65 (m, 2 H, NCH₂CH₂CH₂CH₂Si), 2.19 (s, 48 H, -NMe₂), 2.42 (m, 16 H, SCH₂CH₂N), 2.49 (m, 16 H, SiCH₂CH₂S), 2.57 (m, 16 H, SCH₂CH₂N), 2.65 (m, 2 H, NCH₂). RMN-¹³C{¹H} (CDCl₃): δ -5.4 y -5.1 (SiCH₃), 13.7 (NCH₂CH₂CH₂CH₂Si), 14.5 (SiCH₂CH₂S), 18.2–18.8 (SiCH₂CH₂CH₂Si), 21.2 (NCH₂CH₂CH₂CH₂Si), 27.6 (SiCH₂CH₂S), 29.7 (SCH₂CH₂N), 37.8 (NCH₂CH₂CH₂CH₂Si), 41.9 (Si-NCH₂), 45.3 (-NMe₂), 59.2 (SCH₂CH₂N). RMN-¹⁵N (CDCl₃): δ -353.1 (-NMe₂). RMN-²⁹Si (CDCl₃): δ 2.1 (G₃-SiMe), 0.9 (G₂-SiMe). Anal. Calcd. C₇₇H₁₇₉N₉S₈Si₇ (1684.42 g/mol): C, 54.90; H, 10.71; N, 7.48; S, 15.23; Obt.: C, 53.72; H, 10.11; N, 6.73; S, 14.04.

4.5.2.27 Dendrones con grupos -NMe₃⁺ terminales y distintos grupos funcionales en el punto focal (114-125)



Método sintético 4.

N₃G₁(S-NMe₃⁺I⁻)₂ (114)

Datos: **99** (0.066 g, 0.16 mmol) y MeI (0.02 ml, 0.38 mmol). Sólido blanco (0.074 g, 66 %).

RMN-¹H (DMSO-d₆): 0.04 (s, 3 H, SiMe), 0.59 (t, J_a = 7.2 Hz, 2 H, NCH₂CH₂CH₂CH₂Si), 0.87 (t, J_b = 8.3 Hz, 4 H, SiCH₂CH₂S), 1.33 (m, 2 H, NCH₂CH₂CH₂CH₂Si), 1.55 (m, 2 H, NCH₂CH₂CH₂CH₂Si), 2.63 (t, J_b = 8.2 Hz, 4 H, SiCH₂CH₂S), 2.89 (t, J_c = 7.8 Hz, 4 H, SCH₂CH₂N⁺), 3.08 (s, 20 H, -NMe₃⁺ y N₃CH₂, superpuestas), 3.55 (t, J_c = 7.2 Hz, 4 H, SCH₂CH₂N⁺). RMN-¹³C{¹H} (DMSO-d₆): δ -5.85 (SiCH₃), 11.9 (N₃CH₂CH₂CH₂CH₂Si), 13.5 (SiCH₂CH₂S), 19.9 (N₃CH₂CH₂CH₂CH₂Si), 23.0 (SCH₂CH₂N⁺), 26.2 (SiCH₂CH₂S), 31.4 (N₃CH₂CH₂CH₂CH₂Si), 49.7 (N₃CH₂), 51.7 (-NMe₃⁺), 63.9 (CH₂N⁺). RMN-¹⁵N (DMSO-d₆): δ -338.3 (-NMe₃⁺), -308.5 (N=N=N-CH₂), -131.8 (N=N=N-CH₂). RMN-²⁹Si (DMSO-d₆): δ 2.9 (G₁-SiMe). IR (KBr, cm⁻¹): 2094, ν(N₃). MALDI: [M-I]⁺ = 562.3 uma (calcd. = 562.2 uma). Anal. Calc. C₁₉H₄₅I₂N₅S₂Si (689.62 g/mol): C, 33.09; H, 6.58; N, 10.16; S, 9.30; Obt.: C, 31.15; H, 6.24; N, 7.12; S, 9.66.

N₃G₂(S-NMe₃⁺I⁻)₄ (115)

Datos: **100** (0.125 g, 0.14 mmol) y MeI (0.04 ml, 0.64 mmol). Sólido blanco (0.165 g, 85 %).

RMN-¹H (DMSO-d₆): -0.08 (s, 3 H, SiMe), 0.03 (s, 6 H, SiMe), 0.55 (m, 10 H, NCH₂CH₂CH₂CH₂Si y SiCH₂CH₂CH₂), 0.86 (m, 8 H, SiCH₂CH₂S), 1.31 (m, 6 H, NCH₂CH₂CH₂CH₂Si y SiCH₂CH₂CH₂), 1.53 (m, 2 H, NCH₂CH₂CH₂CH₂Si), 2.63 (m, 8 H, SiCH₂CH₂S), 2.90 (m, 8 H, SCH₂CH₂N⁺), 3.10 (s, 36 H, -NMe₃⁺ y N₃CH₂, superpuestas), 3.55 (m, 8 H, SCH₂CH₂N⁺). RMN-¹³C{¹H} (DMSO-d₆): δ -5.7 y -5.5 (SiCH₃), 12.4 (N₃CH₂CH₂CH₂CH₂Si), 13.6 (SiCH₂CH₂S), 16.8, 17.4 y 17.6 (SiCH₂CH₂CH₂Si), 20.2 (N₃CH₂CH₂CH₂CH₂Si), 23.1 (SCH₂CH₂N⁺), 26.3 (SiCH₂CH₂S), 31.5 (N₃CH₂CH₂CH₂CH₂Si), 49.7 (N₃CH₂), 51.7 (-NMe₃⁺), 63.9 (CH₂N⁺). RMN-¹⁵N (DMSO-d₆): δ -329.3 (-NMe₃⁺), -308.6 (N=N=N-CH₂), -131.8 (N=N=N-CH₂). RMN-²⁹Si (DMSO-d₆): δ 1.6 (G₁-SiMe), 2.3 (G₂-SiMe). IR (KBr, cm⁻¹): 2094, ν(N₃). ESI: q=2 (576.71 [M-2I]²⁺), q=3 (342.17 [M-3I]³⁺), q=4 (224.90 [M-4I]⁴⁺).

Anal. Calc. $C_{41}H_{97}I_4N_7S_4Si_3$ (1408.39 g/mol): C, 34.96; H, 6.94; N, 6.96; S, 9.11; Obt.: C, 33.95; H, 6.30; N, 6.66; S, 7.32.

$N_3G_3(S-NMe_3^+I^-)_8$ (116)

Datos: **101** (0.362 g, 0.29 mmol) y MeI (0.14 ml, 2.24 mmol). Sólido amarillento (0.369 g, 69 %).

RMN- 1H (DMSO- d_6): -0.08 (s, 9 H, *SiMe*), 0.04 (s, 12 H, *SiMe*), 0.53 (m, 26 H, $NCH_2CH_2CH_2CH_2Si$ y $SiCH_2CH_2CH_2$), 0.86 (m, 16 H, $SiCH_2CH_2S$), 1.25 (m, 14 H, $NCH_2CH_2CH_2CH_2Si$ y $SiCH_2CH_2CH_2$), 1.54 (m, 2 H, $NCH_2CH_2CH_2CH_2Si$), 2.64 (m, 16 H, $SiCH_2CH_2S$), 2.90 (m, 16 H, $SCH_2CH_2N^+$), 3.11 (s, 74 H, $-NMe_3^+$ y N_3CH_2 , superpuestas), 3.56 (m, 16 H, $SCH_2CH_2NMe_3^+$). RMN- $^{13}C\{^1H\}$ (DMSO- d_6): δ -5.6 y -5.4 ($SiCH_3$), 12.5 ($N_3CH_2CH_2CH_2CH_2Si$), 13.6 ($SiCH_2CH_2S$), 17.5-17.8 ($SiCH_2CH_2CH_2Si$), 20.3 ($N_3CH_2CH_2CH_2CH_2Si$), 23.2 ($SCH_2CH_2N^+$), 26.4 ($SiCH_2CH_2S$), 31.4 ($N_3CH_2CH_2CH_2CH_2Si$), 49.6 (N_3CH_2), 51.7 ($-NMe_3^+$), 63.9 (CH_2N^+). RMN- ^{15}N (DMSO- d_6): δ -329.4 ($-NMe_3^+$), -308.5 ($N=N=N-CH_2$), -131.7 ($N=N=N-CH_2$). RMN- ^{29}Si (DMSO- d_6): δ 1.0 (G_2-SiMe), 2.4 (G_3-SiMe). IR (KBr, cm^{-1}): 2094, $\nu(N_3)$. Anal. Calc. $C_{85}H_{201}I_8N_{11}S_8Si_7$ (2845.93 g/mol): C, 35.87; H, 7.12; N, 5.41; Obt.: C, 35.38; H, 6.86; N, 5.24.

$PhtG_1(S-NMe_3^+I^-)_2$ (117)

Datos: **102** (0.080 g, 0.16 mmol) y MeI (0.02 ml, 0.37 mmol). Aceite amarillento (0.111 g, 90 %).

RMN- 1H (DMSO- d_6): δ 0.02 (s, 3 H, *SiMe*), 0.61 (t, $J_a = 7.5$ Hz, 2 H, $NCH_2CH_2CH_2CH_2Si$), 0.85 (t, $J_b = 8.7$ Hz, 4 H, $SiCH_2CH_2S$), 1.28 (m, 2 H, $NCH_2CH_2CH_2CH_2Si$), 1.61 (m, 2 H, $NCH_2CH_2CH_2CH_2Si$), 2.61 (t, $J_b = 8.7$ Hz, 4 H, $SiCH_2CH_2S$), 2.88 (t, $J_c = 8.5$ Hz, 4 H, $SCH_2CH_2N^+$), 3.07 (s, 18 H, $-NMe_3^+$), 3.53 (m, 6 H, $SCH_2CH_2NMe_3^+$ y NCH_2 , superpuestas), 7.85 (m, 4 H, C_6H_4). RMN- $^{13}C\{^1H\}$ (DMSO- d_6): δ -5.8 ($SiCH_3$), 11.9 ($NCH_2CH_2CH_2CH_2Si$), 13.4 ($SiCH_2CH_2S$), 20.1 ($NCH_2CH_2CH_2CH_2Si$), 23.0 ($SCH_2CH_2N^+$), 26.2

(SiCH₂CH₂S), 31.1 (NCH₂CH₂CH₂CH₂Si), 36.5 (NCH₂), 51.6 (-NMe₃⁺), 63.9 (SCH₂CH₂N⁺), 122.5 y 134.0 (C₆H₄, C-H), 131.1 (C₆H₄, C_{ipso}), 167.5 (C₆H₃O₃; C-O). RMN-¹⁵N (DMSO-d₆): δ -329.3 (-NMe₃⁺), -217.6 (NCH₂). RMN-²⁹Si (DMSO-d₆): δ 3.0 (G₁-SiMe). IR (KBr, cm⁻¹): 1717 y 1773, ν(C=O). ESI: [M-I]⁺ = 666.3 uma (calcd. = 666.2 uma). Anal. Calcd. C₂₇H₄₉I₂N₃O₂S₂Si (793.72 g/mol): C, 40.86; H, 6.22; N, 5.29; S, 8.08; Exp.: C, 40.16; H, 6.18; N, 4.57; S, 6.81.

PhtG₂(S-NMe₃⁺I)₄ (118)

Datos: **103** (0.395 g, 0.42 mmol) y MeI (0.12 ml, 1.92 mmol). Sólido blanco (0.506 g, 80 %).

RMN-¹H (DMSO-d₆): δ -0.10 (s, 3 H, SiMe), 0.01 (s, 6 H, SiMe), 0.51 (m, 10 H, SiCH₂CH₂CH₂Si y NCH₂CH₂CH₂CH₂Si), 0.84 (t, J_b = 8.6 Hz, 8 H, SiCH₂CH₂S), 1.27 (m, 6 H, SiCH₂CH₂CH₂Si y NCH₂CH₂CH₂CH₂Si), 1.59 (m, 2 H, NCH₂CH₂CH₂CH₂Si), 2.60 (t, J_b = 8.7 Hz, 8 H, SiCH₂CH₂S), 2.88 (t, J_c = 8.5 Hz, 8 H, SCH₂CH₂N⁺), 3.07 (s, 36 H, -NMe₃⁺), 3.53 (m, 10 H, SCH₂CH₂N⁺ y NCH₂), 7.85 (m, 4 H, C₆H₄). RMN-¹³C{¹H} (DMSO-d₆): δ -1.7 (SiMe), 12.3 (NCH₂CH₂CH₂CH₂Si), 13.5 (SiCH₂CH₂S), 16.7, 17.3 y 17.5 (SiCH₂CH₂CH₂Si), 20.2 (NCH₂CH₂CH₂CH₂Si), 23.0 (SCH₂CH₂N⁺), 26.3 (SiCH₂CH₂S), 31.1 (NCH₂CH₂CH₂CH₂Si), 36.5 (NCH₂), 51.6 (-NMe₃⁺), 63.8 (SCH₂CH₂N⁺), 122.4 y 133.8 (C₆H₄, C-H), 130.9 (C₆H₄, C_{ipso}), 167.3 (C₆H₃O₃; C-O). RMN-¹⁵N (DMSO-d₆): δ -329.4 (-NMe₃⁺), -217.7 (Si-NCH₂). RMN-²⁹Si (DMSO-d₆): δ 1.6 (G₁-SiMe), 2.5 (G₂-SiMe). IR (KBr, cm⁻¹): 1717 y 1773, ν(C=O). ESI: q=1 (1384.31 [M-I]⁺), q=2 (628.72 [M-2I]²⁺), q=3 (376.85 [M-3I]³⁺). Anal. Calcd. C₄₉H₁₀₁I₄N₅O₂S₄Si₃ (1512.49 g/mol): C, 38.91; H, 6.73; N, 4.63; S, 8.48; Exp.: C, 38.57; H, 6.61; N, 4.46; S, 8.12.

PhtG₃(S-NMe₃⁺I)₈ (119)

Datos: **104** (0.380 g, 0.21 mmol) y MeI (0.12 ml, 1.92 mmol). Sólido blanco (0.611 g, 99 %).

RMN-¹H (DMSO-d₆): δ -0.09 (s, 9 H, SiMe), 0.02 (s, 12 H, SiMe), 0.51 (m, 26 H, SiCH₂CH₂CH₂Si), 0.84 (m, 16 H, SiCH₂CH₂S), 1.26 (m, 14 H, SiCH₂CH₂CH₂Si y NCH₂CH₂CH₂CH₂Si), 2.59 (m, 16 H, SiCH₂CH₂S), 2.87 (m, 16 H, SCH₂CH₂N⁺), 3.06 (s, 72 H, -NMe₃⁺), 3.53 (m, 18 H, SCH₂CH₂N⁺ y NCH₂), 7.85 (bs, 4 H, C₆H₄). RMN-¹³C{¹H} (DMSO-d₆): δ -5.7 y -5.4 (SiMe), 12.4 (NCH₂CH₂CH₂CH₂Si), 13.6 (SiCH₂CH₂S), 16.9-17.8 (SiCH₂CH₂CH₂Si), 20.1 (NCH₂CH₂CH₂CH₂Si), 23.1 (SCH₂CH₂N⁺), 26.4 (SiCH₂CH₂S), 31.2 (NCH₂CH₂CH₂CH₂Si), 36.6 (NCH₂), 51.7 (-NMe₃⁺), 63.9 (SCH₂CH₂N⁺), 122.5 y 134.0 (C₆H₄, C-H), 131.0 (C₆H₄, C_{ipso}), 167.3 (C₆H₃O₃; C-O)756.12. RMN-¹⁵N (DMSO-d₆): δ -329.4 (-NMe₃⁺). RMN-²⁹Si (DMSO-d₆): δ 1.0 (G₂-SiMe), 2.6 (G₃-SiMe). IR (KBr, cm⁻¹): 1717 y 1773, ν(C=O). Anal. Calcd. C₉₂H₂₀₂I₇N₉O₂S₈Si₇ (2808.10 g/mol): C, 39.35; H, 7.25; I, 31.63; N, 4.49; S, 9.14; Exp.: C, 39.53; H, 7.60; N, 4.49; S, 9.11.

HOC₆H₄OG₁(S-NMe₃⁺I⁻)₂ (120)

Datos: **105** (0.178 g, 0.35 mmol) y MeI (0.05 ml, 0.80 mmol). Sólido blanco (0.087 g, 95 %).

RMN-¹H (DMSO-d₆): δ 0.04 (s, 3 H, SiMe), 0.60 (m, 2 H, CH₂SiC₂H₄S), 0.87 (m, 4 H, SiCH₂CH₂S), 1.44 (m, 2 H, OCH₂CH₂CH₂), 1.67 (m, 2 H, OCH₂CH₂), 2.60 (m, 4 H, SiCH₂CH₂S), 2.86 (m, 4 H, SCH₂CH₂N⁺), 3.06 (s, 18 H, -NMe₃⁺), 3.50 (m, 4 H, CH₂N⁺), 3.82 (m, 2 H, OCH₂), 6.65 y 6.69 (m, 4 H, HOC₆H₄O), 8.87 (HO-). RMN-¹³C{¹H} (DMSO-d₆): δ -1.7 (SiCH₃), 14.1 (OCH₂CH₂CH₂CH₂Si), 15.5 (SiCH₂CH₂S), 18.7 (OCH₂CH₂CH₂CH₂Si), 23.0 (SCH₂CH₂N⁺), 24.8 (SiCH₂CH₂S), 31.9 (OCH₂CH₂CH₂CH₂Si), 51.7 (-NMe₃⁺), 63.9 (CH₂N⁺), 66.9 (OCH₂), 114.7 y 115.2 (C₆H₄O₂, C-H), 150.5 y 150.9 (C₆H₄O₂, C-O). RMN-²⁹Si (DMSO-d₆): δ 3.1 (G₁-SiMe). ESI: q=1 (629.3 [M-I]⁺). Anal. Calcd. C₂₅H₅₀I₂N₂O₂S₂Si (756.70 g/mol): C, 39.68; H, 6.66; N, 3.70; S, 8.47; Exp.: C, 36.50; H, 5.49; N, 3.66; S, 8.14.

HOC₆H₄OG₂(S-NMe₃⁺I⁻)₄ (121)

Datos: **106** (0.631 g, 0.70 mmol) y MeI (0.18 ml, 2.92 mmol). Sólido blanco (0.272 g, 98 %).

RMN-¹H (DMSO-d₆): δ -0.07 (s, 3 H, SiMe), 0.03 (s, 6 H, SiMe), 0.54 (m, 6 H, OCH₂CH₂CH₂CH₂SiCH₂), 0.63 (m, 4 H, CH₂SiC₂H₄S, superpuestas), 0.85 (m, 8 H, SiCH₂CH₂S), 1.25 (m, 6 H, SiCH₂CH₂), 1.66 (m, 2 H, OCH₂CH₂CH₂CH₂Si), 2.62 (m, 8 H, SiCH₂CH₂S), 2.89 (m, 8 H, SCH₂CH₂N⁺), 3.07 (s, 36 H, -NMe₃⁺), 3.51 (m, 8 H, SCH₂CH₂N⁺), 3.83 (m, 2 H, OCH₂), 6.66 y 6.69 (m, 4 H, HOC₆H₄O), 8.88 (HO-). RMN-¹³C{¹H} (DMSO-d₆): δ -5.7 y -5.4 (SiMe), 12.6 (OCH₂CH₂CH₂CH₂Si), 13.6 (SiCH₂CH₂S), 17.2, 17.4 y 17.6 (SiCH₂CH₂CH₂Si), 19.6 (OCH₂CH₂CH₂CH₂Si), 23.1 (SCH₂CH₂N⁺), 26.3 (SiCH₂CH₂S), 32.2 (OCH₂CH₂CH₂CH₂Si), 51.6 (-NMe₃⁺), 63.9 (CH₂N⁺), 67.0 (OCH₂), 114.9 y 115.2 (C₆H₄O₂, C-H), 150.6 y 150.9 (C₆H₄O₂, C-O). RMN-¹⁵N (DMSO-d₆): δ -329.9 (-NMe₃⁺). RMN-²⁹Si (DMSO-d₆): δ 1.9 (G₁-SiMe), 2.6 (G₂-SiMe). ESI: q=1 (1347.31 [M-I]⁺), q=2 (610.22 [M-2I]²⁺), q=3 (364.51 [M-3I]³⁺), q=4 (241.66 [M-4I]⁴⁺). Anal. Calcd. C₄₇H₁₀₂I₄N₄O₂S₄Si₃ (967.85 g/mol): C, 38.26; H, 6.97; N, 3.80; S, 8.69; Exp.: C, 36.98; H, 6.73; N, 4.17; S, 8.50.

HOC₆H₄OG₃(S-NMe₃⁺I⁻)₈ (122)

Datos: **107** (0.427 g, 0.24 mmol) y MeI (0.14 ml, 0.27 mmol). Sólido blanco (0.622 g, 89 %).

RMN-¹H (DMSO-d₆): δ -0.09 (s, 9 H, SiMe), 0.04 (s, 12 H, SiMe), 0.53 (m, 18 H, OCH₂CH₂CH₂CH₂Si y SiCH₂CH₂CH₂Si), 0.63 (m, 8 H, CH₂SiC₂H₄S), 0.86 (m, 16 H, SiCH₂CH₂S), 1.28 (m, 12 H, SiCH₂CH₂), 1.65 (m, 2 H, OCH₂CH₂CH₂CH₂Si), 2.63 (m, 16 H, SiCH₂CH₂S), 2.90 (m, 16 H, SCH₂CH₂N⁺), 3.10 (s, 72 H, -NMe₃⁺), 3.54 (m, 16 H, CH₂N⁺), 3.78 (m, 2 H, OCH₂), 6.66 y 6.69 (m, 4 H, HOC₆H₄O). RMN-¹³C{¹H} (DMSO-d₆): δ -5.6 y -5.4 (SiMe), 13.6 (SiCH₂CH₂S), 17.3-17.8 (SiCH₂CH₂CH₂Si), 23.2 (SCH₂CH₂N⁺), 26.4 (SiCH₂CH₂S), 51.7 (-NMe₃⁺), 63.9 (CH₂N⁺), 114.8 y 115.2

(C₆H₄O₂, C-H). RMN-¹⁵N (DMSO-d₆): δ -330.0 (-NMe₃⁺). RMN-²⁹Si (DMSO-d₆): δ 2.0 (G₁-SiMe), 1.1 (G₂-SiMe), 2.5 (G₃-SiMe). ESI: q=2 (1328.32 [M-2I]²⁺), q=3 (843.26 [M-3I]³⁺), q=4 (600.72 [M-4I]⁴⁺), q=5 (455.20 [M-5I]⁴⁺). Anal. Calcd. C₉₁H₂₀₆I₈N₈O₂S₈Si₇ (2913.01 g/mol): C, 37.52; H, 7.13; N, 3.85; S, 8.81; Exp.: C, 36.50; H, 7.11; N, 4.04; S, 8.31.

HOC₂H₄OG₁(S-NMe₃⁺I⁻)₂ (123)

Datos: **108** (0.125 g, 0.29 mmol) y MeI (0.04 ml, 0.64 mmol). Sólido blanco (0.200 g, 96 %).

RMN-¹H (DMSO-d₆): δ -0.09 (s, 3 H, SiMe), 0.58 (t, J_a = 8.2 Hz, 2 H, OCH₂CH₂CH₂CH₂Si), 0.86 (t, J_b = 8.6 Hz, 4 H, SiCH₂CH₂S), 1.31 (m, 2 H, OCH₂CH₂CH₂CH₂Si), 1.51 (m, 2 H, OCH₂CH₂CH₂CH₂Si), 2.62 (t, J_b = 8.6 Hz, 4 H, SiCH₂CH₂S), 2.89 (t, J_c = 8.4 Hz, 4 H, SCH₂CH₂N⁺), 3.08 (s, 18 H, -NMe₃⁺), 3.37 (m, 4 H, OCH₂CH₂CH₂ y HOCH₂CH₂), 3.51 (m, 6 H, SCH₂CH₂N⁺ y HOCH₂), 4.54 (m, 1 H, HOCH₂). RMN-¹³C{¹H} (DMSO-d₆): δ -5.8 (SiCH₃), 12.2 (OCH₂CH₂CH₂CH₂Si), 13.5 (SiCH₂CH₂S), 19.4 (OCH₂CH₂CH₂CH₂Si), 23.0 (SCH₂CH₂N⁺), 26.2 (SiCH₂CH₂S), 32.5 (OCH₂CH₂CH₂CH₂Si), 51.7 (-NMe₃⁺), 59.7 (HOCH₂), 63.9 (CH₂N⁺), 69.4 (OCH₂CH₂CH₂CH₂Si), 71.5 (HOCH₂CH₂). RMN-¹⁵N (DMSO-d₆): δ -329.3 (-NMe₃⁺). RMN-²⁹Si (DMSO-d₆): δ 3.0 (G₁-SiMe). ESI: [M-I]⁺ = 581.2 uma (calcd. = 581.3 uma). Anal. Calcd. C₂₁H₅₀I₂N₂O₂S₂Si (708.66 g/mol): C, 35.59; H, 7.11; N, 3.95; Exp.: C, 32.56; H, 6.32; N, 4.04.

HOC₂H₄OG₂(S-NMe₃⁺I⁻)₄ (124)

Datos: **109** (0.501 g, 0.58 mmol) y MeI (0.15 ml, 2.40 mmol). Sólido blanco (0.800 g, 96 %).

RMN-¹H (DMSO-d₆): δ -0.08 (s, 3 H, SiMe), 0.04 (s, 6 H, SiMe), 0.54 (m, 6 H, OCH₂CH₂CH₂CH₂Si y SiCH₂CH₂CH₂Si, superpuestas), 0.63 (m, 4 H, CH₂SiC₂H₄S, superpuestas), 0.85 (t, J_a = 8.3 Hz, 8 H, SiCH₂CH₂S), 1.28 (m, 6 H, OCH₂CH₂CH₂CH₂Si y SiCH₂CH₂CH₂Si), 1.49 (m, 2 H, OCH₂CH₂CH₂CH₂Si),

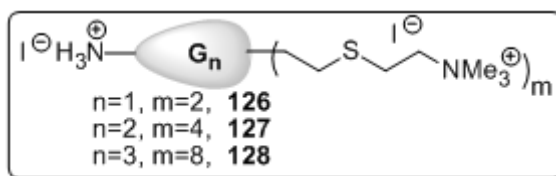
2.63 (t, $J_a = 8.5$ Hz, 8 H, $\text{SiCH}_2\text{CH}_2\text{S}$), 2.89 (t, $J_b = 7.9$ Hz, 8 H, $\text{SCH}_2\text{CH}_2\text{N}^+$), 3.09 (s, 36 H, $-\text{NMe}_3^+$), 3.36 (m, 4 H, $\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2$ y HOCH_2CH_2), 3.53 (m, 10 H, $\text{SCH}_2\text{CH}_2\text{N}^+$ y HOCH_2), 4.54 ($\text{HO}-$). RMN- $^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ (DMSO-d_6): δ -5.7 y -5.4 (SiCH_3), 12.6 ($\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2$), 13.6 ($\text{SiCH}_2\text{CH}_2\text{S}$), 17.1-17.6 ($\text{SiCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{Si}$), 19.6 ($\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{Si}$), 23.1 ($\text{SCH}_2\text{CH}_2\text{N}^+$), 26.3 ($\text{SiCH}_2\text{CH}_2\text{S}$), 32.4 ($\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{Si}$), 51.6 ($-\text{NMe}_3^+$), 59.7 (HOCH_2), 63.9 (CH_2N^+), 69.5 ($\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{Si}$), 71.5 (HOCH_2CH_2). RMN- ^{15}N (DMSO-d_6): δ -329.4 ($-\text{NMe}_3^+$). RMN- ^{29}Si (DMSO-d_6): δ 1.7 ($\text{G}_1\text{-SiMe}$), 2.5 ($\text{G}_2\text{-SiMe}$). ESI: $q=1$ (1299.31 $[\text{M-I}]^+$), $q=2$ (586.22 $[\text{M-2I}]^{2+}$), $q=3$ (348.51 $[\text{M-3I}]^{3+}$). Anal. Calcd. $\text{C}_{43}\text{H}_{102}\text{I}_4\text{N}_4\text{O}_2\text{S}_4\text{Si}_3$ (1427.43 g/mol): C, 36.18; H, 7.20; I, 35.56; N, 3.93; O, 2.24; S, 8.99; Exp.: C, 35.64; H, 6.89; N, 3.94; S, 8.67.

$\text{HOC}_2\text{H}_4\text{OG}_3(\text{S-NMe}_3^+\text{I}^-)_8$ (125)

Datos: **110** (0.631 g, 0.36 mmol) y MeI (0.18 ml, 2.88 mmol). Sólido blanco (1.003 g, 96 %).

RMN- ^1H (DMSO-d_6): δ -0.09 (s, 9 H, SiMe), 0.04 (s, 12 H, SiMe), 0.53 (m, 18 H, $\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{Si}$ y $\text{SiCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{Si}$), 0.63 (m, 8 H, $\text{CH}_2\text{SiC}_2\text{H}_4\text{S}$, superpuestas), 0.86 (m, 16 H, $\text{SiCH}_2\text{CH}_2\text{S}$), 1.29 (m, 14 H, $\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{Si}$ y $\text{SiCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{Si}$), 1.51 (m, 2 H, $\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{Si}$), 2.63 (m, 16 H, $\text{SiCH}_2\text{CH}_2\text{S}$), 2.90 (m, 16 H, $\text{SCH}_2\text{CH}_2\text{N}^+$), 3.10 (s, 72 H, $-\text{NMe}_3^+$), 3.36 (m, 4 H, $\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2$ y HOCH_2CH_2), 3.54 (m, 18 H, $\text{SCH}_2\text{CH}_2\text{N}^+$ y HOCH_2). RMN- $^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ (DMSO-d_6): δ -5.6 y -5.4 (SiCH_3), 12.7 ($\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{Si}$), 13.6 ($\text{SiCH}_2\text{CH}_2\text{S}$), 17.4-17.8 ($\text{SiCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{Si}$), 19.5 ($\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{Si}$), 23.2 ($\text{SCH}_2\text{CH}_2\text{N}^+$), 26.4 ($\text{SiCH}_2\text{CH}_2\text{S}$), 32.7 ($\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{Si}$), 51.7 ($-\text{NMe}_3^+$), 59.7 (HOCH_2), 63.9 (CH_2N^+), 69.3 ($\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{Si}$), 71.4 (HOCH_2CH_2). RMN- ^{15}N (DMSO-d_6): δ -329.4 ($-\text{NMe}_3^+$). RMN- ^{29}Si (DMSO-d_6): δ 1.7 ($\text{G}_1\text{-SiMe}$), 1.1 ($\text{G}_2\text{-SiMe}$), 2.5 ($\text{G}_3\text{-SiMe}$). ESI: $q=2$ (1305.30 $[\text{M-2I}]^{2+}$), $q=3$ (827.26 $[\text{M-3I}]^{3+}$), $q=4$ (588.73 $[\text{M-4I}]^{4+}$). Anal. Calcd. $\text{C}_{87}\text{H}_{206}\text{I}_8\text{N}_8\text{O}_2\text{S}_8\text{Si}_7$ (2864.97 g/mol): C, 36.47; H, 7.25; N, 3.91; Exp.: C, 35.68; H, 7.27; N, 3.91.

4.5.2.28 Dendrones con grupos – NMe₃⁺ terminales y un grupo amonio primario en el punto focal (126-128)



En el interior de una ampolla se disuelve la cuña dendrítica precursora PhtG_n(S-NMe₃⁺)_m (**117-119**) en MeOH:H₂O (20:1) y se adicionan 2.5 equivalentes de hidracina hidrato (Si-N₂H₄·xH₂O) bajo argón. La ampolla se sella y la mezcla de reacción se calienta a 80 °C durante una noche con agitación. Posteriormente, se evapora el disolvente y el exceso de hidracina en la línea de vacío y se disuelve el producto en agua. A la disolución resultante se adicionan 2.5 equivalentes de HI bajo atmósfera inerte y tras 20 minutos de agitación se filtra la disolución resultante. Una vez filtrada se evaporan los volátiles y se lava el residuo resultante con Et₂O (x2) y hexano (x1). Tras evaporar el disolvente se obtienen los compuestos NH₃⁺G_n(S-NMe₃⁺)_m (**126-128**) como sólidos entre blancos y anaranjados.

NH₃⁺G₁(S-NMe₃⁺I)₂ (126)

Datos: Paso 1: **117** (0.060 g, 0.08 mmol) y N₂H₄ (0.01 ml, 0.03 mmol); paso 2: HI (0.02 ml, 0.02 mmol). Sólido anaranjado (0.044 g, 88 %).

RMN-¹H (DMSO-d₆): δ -0.07 (s, 3 H, SiMe), 0.60 (m, 2 H, N⁺CH₂CH₂CH₂CH₂Si), 0.90 (t, J_a = 8.1 Hz, 4 H, SiCH₂CH₂S), 1.33 (m, 2 H, N⁺CH₂CH₂CH₂), 1.56 (m, 2 H, N⁺CH₂CH₂), 2.67 (t, J_a = 8.0 Hz, 4 H, SiCH₂CH₂S), 2.80 (m, 2 H, N⁺CH₂), 2.92 (t, J_b = 8.3 Hz, 4 H, SCH₂CH₂N⁺), 3.14 (s, 18 H, -NMe₃⁺), 3.58 (t, J_b = 8.4 Hz, 4 H, CH₂N⁺), 7.61 (bs, 3 H, -NH₃⁺). RMN-¹³C{¹H} (DMSO-d₆): δ -5.7 (SiCH₃), 12.3 (N⁺CH₂CH₂CH₂CH₂), 13.5 (SiCH₂CH₂S), 19.8 (N⁺CH₂CH₂CH₂), 23.1 (SCH₂CH₂N⁺), 26.3 (SiCH₂CH₂S), 30.3 (N⁺CH₂CH₂), 38.5 (N⁺CH₂), 51.7 (-NMe₃⁺), 63.9 (SCH₂CH₂N⁺). RMN-¹⁵N (DMSO-d₆): δ -329.6 (-NMe₃⁺), -346.2 (N⁺CH₂). ESI: q=1 (536.20 [M-HI-I]⁺), q=2 (204.65 [M-HI-2I]²⁺).

NH₃⁺G₂(S-NMe₃⁺I)₄ (127)

Datos: **118** (0.506 g, 0.33 mmol), N₂H₄ (0.02 ml, 0.82 mmol) y HI (0.11 ml, 0.84 mmol). Sólido blanco (0.343 g, 68 %).

RMN-¹H (DMSO-d₆): δ -0.07 (s, 3 H, SiMe), 0.04 (s, 6 H, SiMe), 0.57 (m, 10 H, SiCH₂CH₂CH₂Si y NCH₂CH₂CH₂CH₂Si), 0.86 (t, J_a = 8.2 Hz, 8 H, SiCH₂CH₂S), 1.29 (m, 6 H, SiCH₂CH₂CH₂Si y NCH₂CH₂CH₂CH₂Si), 1.52 (m, 2 H, NCH₂CH₂CH₂CH₂Si), 2.64 (t, J_a = 8.4 Hz, 8 H, SiCH₂CH₂S), 2.78 (m, 2 H, NCH₂), 2.90 (t, J_b = 8.2 Hz, 8 H, SCH₂CH₂N⁺), 3.10 (s, 36 H, -NMe₃I), 3.54 (t, J_b = 8.3 Hz, 8 H, SCH₂CH₂N⁺), 7.62 (bs, 3 H, -NH₃⁺). RMN-¹³C{¹H} (DMSO-d₆): δ -5.6 (SiCH₃), 12.7 (NCH₂CH₂CH₂CH₂Si), 13.6 (SiCH₂CH₂S), 17.2, 17.4 y 17.5 (SiCH₂CH₂CH₂Si), 20.0 (NCH₂CH₂CH₂CH₂Si), 23.1 (SCH₂CH₂N⁺), 26.4 (SiCH₂CH₂S), 30.4 (NCH₂CH₂CH₂CH₂Si), 38.4 (NCH₂), 51.7 (-NMe₃⁺), 63.9 (SCH₂CH₂N⁺). RMN-¹⁵N (DMSO-d₆): δ -329.5 (-NMe₃⁺), -346.3 (NCH₂). RMN-²⁹Si (DMSO-d₆): δ 2.5 (G₂-SiMe). Anal. Calcd. C₄₁H₁₀₀I₅N₅S₄Si₃ (1510.30 g/mol): C, 32.61; H, 6.67; N, 4.64; S, 8.49; Exp.: C, 32.55; H, 6.65; N, 4.40; S, 8.18.

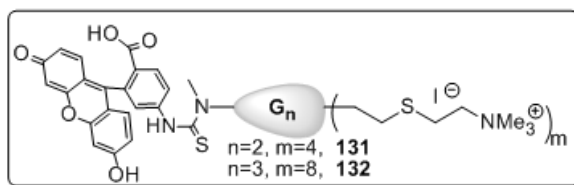
NH₃⁺G₃(S-NMe₃⁺I)₈ (128)

Datos: **119** (0.620 g, 0.21 mmol), N₂H₄ (0.01 ml, 0.52 mmol) y HI (0.12 ml, 0.92 mmol). Sólido anaranjado (0.487 g, 79 %).

RMN-¹H (DMSO-d₆): δ -0.08 (s, 9 H, SiMe), 0.05 (s, 12 H, SiMe), 0.53 (m, 26 H, SiCH₂CH₂CH₂Si y NCH₂CH₂CH₂CH₂Si), 0.86 (m, 16 H, SiCH₂CH₂S), 1.29 (m, 14 H, SiCH₂CH₂CH₂Si y NCH₂CH₂CH₂CH₂Si), 2.64 (m, 16 H, SiCH₂CH₂S), 2.91 (m, 16 H, SCH₂CH₂N⁺), 3.13 (s, 72 H, -NMe₃⁺), 3.56 (m, 16 H, SCH₂CH₂N⁺). RMN-¹³C{¹H} (DMSO-d₆): δ -5.3 (SiCH₃), 12.8 (NCH₂CH₂CH₂CH₂Si), 13.7 (SiCH₂CH₂S), 16.9 - 17.6 (SiCH₂CH₂CH₂Si), 20.1 (NCH₂CH₂CH₂CH₂Si), 23.2 (SCH₂CH₂N⁺), 26.4 (SiCH₂CH₂S), 30.4 (NCH₂CH₂CH₂CH₂Si), 38.4 (NCH₂), 51.7 (-NMe₃⁺), 63.9 (SCH₂CH₂N⁺). RMN-¹⁵N: δ -329.4 (-NMe₃⁺). RMN-²⁹Si: δ 1.0 (G₂-SiMe), 2.5 (G₃-SiMe). Anal. Calcd.

$C_{85}H_{204}I_9N_9S_8Si_7$ (2947.85 g/mol): C, 34.63; H, 6.98; N, 4.28; S, 8.70; Exp.: C, 34.66; H, 6.94; N, 4.36; S, 8.40.

4.5.2.29 Dendrones con fluoresceína en el punto focal (131-132)



Método sintético 8.

(FITCNMe) G_2 (S-NMe $_3^+I^-$) $_4$ (131)

Datos: Paso 1: **112** (0.150 g, 0.18 mmol) y FITC (0.090 g, 0.23 mmol); paso 2: MeI (0.06 ml, 0.96 mmol). Sólido anaranjado (0.221 g, 68 %).

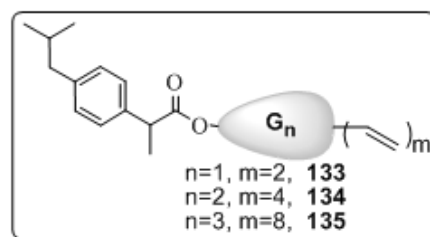
RMN- 1H (DMSO- d_6): δ -0.06 (s, 3 H, SiMe), 0.02 (s, 6 H, SiMe), 0.57 (m, 10 H, SiCH $_2$ CH $_2$ CH $_2$ Si y NCH $_2$ CH $_2$ CH $_2$ CH $_2$ Si), 0.85 (m, 8 H, SiCH $_2$ CH $_2$ S), 1.29 (m, 6 H, NCH $_2$ CH $_2$ CH $_2$ CH $_2$ Si y SiCH $_2$ CH $_2$ CH $_2$ Si), 1.60 (m, 2 H, NCH $_2$ CH $_2$ CH $_2$ CH $_2$ Si), 2.42 (sa, 1 H, SC $_2$ H $_4$ NHCS), 2.61 (m, 8 H, SiCH $_2$ CH $_2$ S), 2.88 (m, 11 H, -SCH $_2$ CH $_2$ NMe $_3^+$ y NHC(S)NMe-), 3.06 (s, 36 H, -SCH $_2$ CH $_2$ NMe $_3^+$), 3.28 (m, 2 H, -NCH $_2$), 3.49 (m, 8 H, -SCH $_2$ CH $_2$ NMe $_3^+$), 6.52 y 6.61 (sa, 8 H, C $_{ar(fq)}$ -H), 7.05 - 8.30 (C $_{ar(fl)}$ -H). RMN- ^{13}C { 1H } (DMSO- d_6): δ -5.6 (SiCH $_3$), 12.7 (Si-NCH $_2$ CH $_2$ CH $_2$ CH $_2$ Si), 13.6 (SiCH $_2$ CH $_2$ S), 17.2 - 19.8 (SiCH $_2$ CH $_2$ CH $_2$ Si), 20.6 (NCH $_2$ CH $_2$ CH $_2$ CH $_2$ Si), 23.1 (SCH $_2$ CH $_2$ N $^+$), 26.4 (SiCH $_2$ CH $_2$ S), 31.4 (NCH $_2$ CH $_2$ CH $_2$ CH $_2$ Si), 41.2 (NCH $_2$ -), 44.1 (NMeCSNH-), 51.7 (-NMe $_3^+$), 63.9 (-SCH $_2$ CH $_2$ N $^+$), 101.8, 109.8, 113.1, 124.4, 151.5, 152.1, 153.1, 168.5 y 179.7 (C $_{Ar}$ -H). RMN- ^{29}Si (DMSO- d_6): δ 1.8 (G $_1$ -SiMe), 2.5 (G $_2$ -SiMe). RMN- ^{15}N (DMSO- d_6): δ -329.9 (-NMe $_3$ I). IR (KBr): 1751, ν (C=O). UV-Vis (H $_2$ O): 236.4, 504.5. ESI: q=2 (765.2 [M-2I] $^{2+}$). Anal. Calc. $C_{62}H_{110}I_4N_6O_5S_5Si_3$ (1771.77 g/mol): C, 42.03; H, 6.26; N, 4.74; S, 9.05; Exp.: C, 41.49; H, 6.53; N, 4.79; S, 8.55.

(FITCNMe)G₃(S-NMe₃⁺I⁻)₈ (132)

Datos: Paso 1: **113** (0.084 g, 0.05 mmol) y FITC (0.024 g, 0.06 mmol); paso 2: MeI (0.03 ml, 0.48 mmol). Sólido anaranjado (0.120 g, 75 %).

RMN-¹H (DMSO-d₆): δ -0.09 (s, 9 H, SiMe), 0.02 (s, 12 H, SiMe), 0.53 (m, 26 H, SiCH₂CH₂CH₂Si y NCH₂CH₂CH₂CH₂Si), 0.85 (m, 16 H, SiCH₂CH₂S), 1.28 (m, 14 H, NCH₂CH₂CH₂CH₂Si y SiCH₂CH₂CH₂Si), 1.59 (m, 2 H, NCH₂CH₂CH₂CH₂Si), 2.42 (sa, 1 H, -NS(Me)NH-), 2.62 (m, 16 H, SiCH₂CH₂S), 2.88 (m, 19 H, -SCH₂CH₂N⁺ y NHC(S)NMe-), 3.09 (s, 72 H, -NMe₃⁺), 3.28 (m, 2 H, -NCH₂), 3.54 (m, 16 H, -SCH₂CH₂N⁺), 6.51 y 6.60 (sa, 8 H, C_{ar(fq)}-H), 7.05 - 7.30 (C_{ar(fl)}-H). RMN-¹³C{¹H} (DMSO-d₆): δ -5.7 (SiMe), 11.8 (NCH₂CH₂CH₂CH₂Si), 13.6 (SiCH₂CH₂S), 17.8 (NCH₂CH₂CH₂CH₂Si y SiCH₂CH₂CH₂Si), 23.2 (SCH₂CH₂N⁺), 26.4 (SiCH₂CH₂S), 31.4 (NCH₂CH₂CH₂CH₂Si), 40.2 (NCH₂), 44.0 (NMeCSNH-), 51.7 (-NMe₃⁺), 63.9 (-SCH₂CH₂N⁺). RMN-²⁹Si (DMSO-d₆): δ 0.9 (G₂-SiMe), 2.5 (G₃-Si). RMN-¹⁵N (DMSO-d₆): δ -329.8 (-NMe₃⁺). IR (KBr, cm⁻¹): 1751, ν(C=O). UV-vis (H₂O): 226.8, 266.0, 290.3, 323.15, 463.0, 497.8. Anal. Calc. C₁₀₆H₂₁₄I₈N₁₀O₅S₉Si₇ (3209.32 g/mol): C, 39.67; H, 6.72; N, 4.36; S, 8.99; Exp.: C, 39.29; H, 6.75; N, 4.06; S, 9.16.

4.5.2.30 Dendrones con ibuprofeno en el punto focal y grupos vinilo periféricos (133-135)



A una disolución en DMF de dendrón con grupos vinilo terminales y un átomo de bromo en el punto focal se añade la cantidad estequiométrica de S-(+)-ibuprofeno, en presencia de dos equivalentes de K₂CO₃, 0.1 equivalentes de 18-corona-6 y cantidades catalíticas de yoduro de sodio. Tras una noche calentando a 80 °C, se eliminan los volátiles y se realiza una extracción Et₂O/NH₄Cl (ac) (50:30). Tras secar la fase orgánica con MgSO₄ y eliminar los disolventes a vacío se obtienen los compuestos deseados como aceites amarillentos viscosos.

IbuCO₂G₁V₂ (133)

Datos: **15** (1.532 g, 6.57 mmol), IbuCO₂H (1.356 g, 6.57 mmol), K₂CO₃ (1.992 g, 14.41 mmol) y 18C6 (0.182 g, 0.68 mmol). Aceite amarillento (2.158 g, 92 %).

RMN-¹H (CDCl₃): δ 0.10 (s, 3 H, SiMe), 0.60 (t, J_a = 8.3 Hz, 2 H, CH₂Si), 0.89 (d, J_b = 6.8 Hz, 6 H, (CH₃)₂CH), 1.31 (m, 2 H, CH₂CH₂Si), 1.47 (d, J_c = 7.2 Hz, 3 H, CH(CH)₃CO), 1.56 (m, 2 H, OCH₂CH₂), 1.84 (m, 1 H, (CH₃)₂CH), 2.43 (d, J_d = 6.8 Hz, 2 H, CH₂Ar), 3.67 (q, J_c = 7.2 Hz, 1 H, CHCO), 4.05 (t, J_e = 6.4 Hz, 2 H, OCH₂), 5.68 y 6.08 (m, 6 H, SiCHCH₂), 7.09 y 7.17 (m, 4 H, Ar, C-H). RMN-¹³C{¹H} (CDCl₃): δ -5.4 (SiCH₃), 13.5 (CH₂Si), 18.5 ((CH₃)CH), 20.0 (CH₂CH₂Si), 22.4 ((CH₃)₂CH), 30.2 ((CH₃)₂CH), 32.1 (OCH₂CH₂), 45.0 (CHCO), 45.2 (CH₂Ar), 64.3 (OCH₂), 127.1 y 129.2 (Ar, C-H), 132.9 (SiCHCH₂), 136.6 (SiCHCH₂), 137.8 y 140.3 (Ar, C_{ipso}), 174.7 (C=O). RMN-²⁹Si (CDCl₃): δ -12.9 (SiCHCH₂). Anal. Calcd. C₂₂H₃₄O₂Si (358.59 g/mol): C, 73.69; H, 9.56; Exp.: C, 72.86; H, 9.29.

IbuCO₂G₂V₄ (134)

Datos: **16** (0.586 g, 1.28 mmol), IbuCO₂H (0.264 g, 1.28 mmol), K₂CO₃ (0.354 g, 2.56 mmol) y 18C6 (0.034 g, 0.12 mmol). Aceite amarillento (0.703 g, 94 %).

RMN-¹H (CDCl₃): δ -0.13 (s, 3 H, SiMe), 0.12 (s, 6 H, SiMeC₂H₃), 0.42 (t, J_a = 7.6 Hz, 2 H, OCH₂CH₂CH₂CH₂Si), 0.56 (t, J_b = 8.3 Hz, 4 H, SiCH₂CH₂CH₂Si), 0.69 (t, J_c = 8.1 Hz, 4 H, CH₂SiC₂H₃), 0.88 (d, J_d = 6.4 Hz, 6 H, (CH₃)₂CH), 1.29 (m, 6 H, OCH₂CH₂CH₂CH₂Si y SiCH₂CH₂CH₂Si), 1.47 (d, J_e = 7.2 Hz, 3 H, CH(CH)₃CO), 1.57 (m, 2 H, OCH₂CH₂CH₂CH₂Si), 1.83 (m, 1 H, (CH₃)₂CH), 2.42 (d, J_f = 7.2 Hz, 2 H, CH₂Ar), 3.66 (q, J_e = 7.2 Hz, 1 H, CHCO), 4.03 (t, J_g = 6.6 Hz, 2 H, OCH₂), 5.68 y 6.07 (m, 12 H, SiCHCH₂), 7.07 y 7.19 (m, 4 H, Ar, C-H). RMN-¹³C{¹H} (CDCl₃): δ -5.2 (SiCH₃), 13.5 (OCH₂CH₂CH₂CH₂Si), 18.2–18.7 (SiCH₂CH₂CH₂Si y (CH₃)CH), 20.2 (OCH₂CH₂CH₂CH₂Si), 22.4 ((CH₃)₂CH), 30.2 ((CH₃)₂CH), 32.4 (OCH₂CH₂CH₂CH₂Si), 45.0 (CHCO), 45.2 (CH₂Ar), 64.4 (OCH₂), 127.1 y 129.2

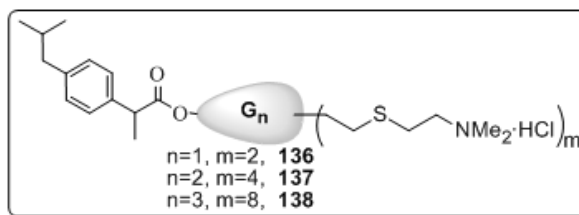
(Ar, C-H), 132.6 (SiCHCH₂), 137.1 (SiCHCH₂), 137.8 y 140.4 (Ar, C_{ipso}), 174.8 (C=O). RMN-²⁹Si (CDCl₃): δ 1.8 (G₁-Si), -13.4 (G₂-SiCHCH₂). Anal. Calcd. C₃₄H₅₈O₂Si₃ (583.08 g/mol): C, 70.04; H, 10.03; Exp.: C, 69.76; H, 9.45.

IbuCO₂G₃V₈ (135)

Datos: **17** (0.627 g, 0.69 mmol), IbuCO₂H (0.142 g, 0.69 mmol), K₂CO₃ (0.191 g, 1.38 mmol) y 18C6 (0.017 g, 0.06 mmol). Aceite amarillento (0.669 g, 94 %).

RMN-¹H (CDCl₃): δ -0.12 y -0.11 (s, 9 H, SiMe), 0.11 (s, 12 H, SiMeC₂H₃), 0.42 (t, J_a = 8.4 Hz, 2 H, OCH₂CH₂CH₂CH₂Si), 0.53 (m, 16 H, SiCH₂CH₂CH₂Si, superpuestas), 0.68 (t, J_b = 8.1 Hz, CH₂SiC₂H₃), 0.87 (d, J_c = 6.6 Hz, 6 H, (CH₃)₂CH), 1.32 (m, 14 H, OCH₂CH₂CH₂CH₂Si y SiCH₂CH₂CH₂Si), 1.46 (d, J_d = 7.2 Hz, 3 H, CH(CH₃)₃CO), 1.57 (m, 2 H, OCH₂CH₂), 1.80 (m, 1 H, (CH₃)₂CH), 2.42 (d, J_e = 6.9 Hz, 2 H, CH₂Ar), 3.64 (q, J_e = 6.9 Hz, 1 H, CHCO), 4.03 (t, J_f = 6.4 Hz, 2 H, OCH₂), 5.68 y 6.06 (m, 24 H, SiCHCH₂), 7.07 y 7.16 (m, 4 H, Ar, C-H). RMN-¹³C{¹H} (CDCl₃): δ -5.2 y -5.0 (SiCH₃), 13.6 (OCH₂CH₂CH₂CH₂Si), 18.3–18.9 (SiCH₂CH₂CH₂Si y (CH₃)CH), 20.2 (OCH₂CH₂CH₂CH₂Si), 22.4 ((CH₃)₂CH), 30.2 ((CH₃)₂CH), 32.4 (OCH₂CH₂CH₂CH₂Si), 45.0 (CHCO), 45.2 (CH₂Ar), 64.5 (OCH₂), 127.1 y 129.2 (Ar, C-H), 132.6 (SiCHCH₂), 137.2 (SiCHCH₂), 137.8 y 140.4 (Ar, C_{ipso}), 174.8 (C=O). RMN-²⁹Si (CDCl₃): δ 1.6 (G₁-Si), 1.0 (G₂-Si), -13.3 (G₃-SiCHCH₂). Anal. Calcd. C₅₈H₁₀₆O₂Si₇ (1032.06 g/mol): C, 67.50; H, 10.35; Exp.: C, 66.12; H, 10.00.

4.5.2.31 Dendrones con ibuprofeno en el punto focal y grupos $-NMe_2 \cdot HCl$ periféricos (136-138)



Método sintético 6a.

IbuCO₂G₁(S-NMe₂·HCl)₂ (136)

Datos: **133** (0.469 g, 1.31 mmol), hidrocloreuro de 2-(dimetilamino)etanotiol (0.390 g, 2.75 mmol) y DMPA (0.067 g, 0.26 mmol). Sólido amarillo (0.747 g, 89 %).

RMN-¹H (DMSO-d₆): δ -0.03 (s, 3 H, SiMe), 0.50 (t, $J_a = 8.3$ Hz, 2 H, CH₂Si), 0.84 (m, 10 H, (CH₃)₂CH y SiCH₂CH₂S), 1.23 (m, 2 H, OCH₂CH₂CH₂CH₂Si), 1.36 (d, $J_b = 7.2$ Hz, 3 H, CH(CH₃)₃CO), 1.51 (m, 2 H, OCH₂CH₂), 1.80 (m, 1 H, (CH₃)₂CH), 2.40 (d, $J_c = 7.2$ Hz, CH₂Ar), 2.58 (t, $J_d = 8.7$ Hz, 4 H, SiCH₂CH₂S), 2.74 (s, 12 H, -NMe₂H⁺), 2.80 (t, $J_e = 8.1$ Hz, 4 H, SCH₂CH₂N⁺), 3.16 (t, $J_e = 8.0$ Hz, 4 H, CH₂N⁺), 3.72 (m, 1 H, CHCO), 4.00 (m, 2 H, OCH₂), 7.11 y 7.14 (m, 4 H, Ar, C-H). RMN-¹³C {¹H} (DMSO-d₆): δ -6.0 (SiCH₃), 11.9 (CH₂Si), 13.3 (SiCH₂CH₂S), 17.9 ((CH₃)CH), 18.9 (CH₂CH₂Si), 21.7 ((CH₃)₂CH), 24.0 (SCH₂CH₂N⁺), 25.9 (SiCH₂CH₂S), 29.1 (CH₃)₂CH), 31.2 (OCH₂CH₂CH₂CH₂Si), 41.4 (-NMe₂H⁺), 43.7 (CHCO), 43.7 (CH₂Ar), 55.2 (CH₂N⁺), 63.1 (OCH₂), 126.5 y 128.5 (Ar, C-H), 137.4 y 139.2 (Ar, C_{ipso}), 173.4 (C=O). RMN-¹⁵N (DMSO-d₆): δ -338.2 (-NMe₂H⁺). RMN-²⁹Si (DMSO-d₆): δ 3.2 (G₁-SiMe). ESI: q=1 (569.36 [M-HCl-Cl]⁺), q=2 (285.18 [M-2Cl]²⁺).

IbuCO₂G₂(S-NMe₂·HCl)₄ (137)

Datos: **134** (0.692 g, 1.19 mmol), hidrocloreuro de 2-(dimetilamino)etanotiol (0.706 g, 4.98 mmol) y DMPA (0.122 g, 0.48 mmol). Sólido amarillo (0.942 g, 69 %).

RMN-¹H (DMSO-d₆): δ -0.13 (s, 3 H, SiMe), 0.02 (s, 6 H, SiMeC₂H₄S), 0.40 (t, $J_a = 8.1$ Hz, 2 H, OCH₂CH₂CH₂CH₂Si), 0.50 (t, $J_b = 7.9$ Hz, 4 H, SiCH₂CH₂CH₂Si), 0.61 (t, $J_c = 7.9$ Hz, 4 H, CH₂SiC₂H₄S), 0.84 (m, 14 H,

(CH_3) $_2$ CH y $\text{SiCH}_2\text{CH}_2\text{S}$), 1.17 (m, 2 H, $\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{Si}$), 1.27 (m, 4 H, $\text{SiCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{Si}$, superpuestas), 1.35 (d, $J_d = 7.6$ Hz, 3 H, $\text{CH}(\text{CH})_3\text{CO}$), 1.49 (m, 2 H, $\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{Si}$), 1.79 (m, 1 H, $(\text{CH}_3)_2\text{CH}$), 2.39 (d, $J_e = 7.2$ Hz, CH_2Ar), 2.60 (t, $J_f = 8.4$ Hz, 8 H, $\text{SiCH}_2\text{CH}_2\text{S}$), 2.72 (s, 24 H, $-\text{NMe}_2\text{H}^+$), 2.86 (t, $J_g = 8.1$ Hz, 8 H, $\text{SCH}_2\text{CH}_2\text{N}^+$), 3.19 (t, $J_g = 8.1$ Hz, 8 H, CH_2N^+), 3.71 (m, 1 H, CHCO), 4.00 (m, 2 H, OCH_2), 7.09 y 7.14 (m, 4 H, Ar, C-H). RMN- $^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ (DMSO- d_6): δ -5.8 y -5.6 (SiCH_3), 12.4 ($\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{Si}$), 13.5 ($\text{SiCH}_2\text{CH}_2\text{S}$), 16.8–17.9 ($\text{SiCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{Si}$ y $(\text{CH}_3)\text{CH}$), 19.2 ($\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{Si}$), 21.6 ($(\text{CH}_3)_2\text{CH}$), 24.1 ($\text{SCH}_2\text{CH}_2\text{N}^+$), 26.0 ($\text{SiCH}_2\text{CH}_2\text{S}$), 29.1 ($(\text{CH}_3)_2\text{CH}$), 31.3 ($\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{Si}$), 41.3 ($-\text{NMe}_2\text{H}^+$), 43.7 (CHCO), 43.7 (CH_2Ar), 55.2 (CH_2N^+), 63.2 (OCH_2), 126.4 y 128.5 (Ar, C-H), 137.4 y 139.2 (Ar, C_{ipso}), 173.4 ($\text{C}=\text{O}$). RMN- ^{15}N (DMSO- d_6): δ -338.4 ($-\text{NMe}_2\text{H}^+$). RMN- ^{29}Si (DMSO- d_6): δ 1.8 ($G_1\text{-SiMe}$), 2.5 ($G_2\text{-SiMe}$). ESI: $q=3$ (335.22 [M-HCl-3Cl] $^{3+}$), $q=2$ (502.32 [M-2HCl-2Cl] $^{2+}$), $q=1$ (1003.63 [M-3HCl-Cl] $^+$). Anal. Calcd. $\text{C}_{50}\text{H}_{106}\text{Cl}_4\text{N}_4\text{O}_2\text{S}_4\text{Si}_3$ (1149.73 g/mol): C, 52.23; H, 9.29; N, 4.87; S, 11.16; Exp.: C, 49.99; H, 8.92; N, 4.78; S, 11.30.

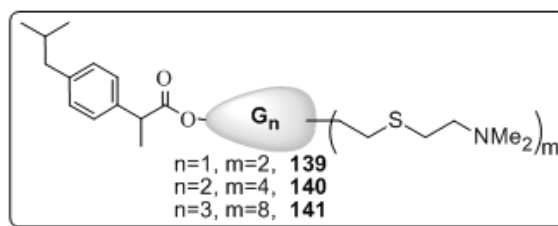
IbuCO $_2$ G $_3$ (S-NMe $_2$ -HCl) $_8$ (138)

Datos: **135** (0.361 g, 0.35 mmol), hidrocloreto de 2-(dimetilamino)etanotiol (0.438 g, 3.09 mmol) y DMPA (0.072 g, 0.28 mmol). Sólido amarillo (0.399 g, 53%).

RMN- ^1H (DMSO- d_6): δ -0.15 (s, 3 H, SiMe), -0.09 (s, 6 H, SiMe), 0.01 (s, 12 H, $\text{SiMeC}_2\text{H}_4\text{S}$), 0.40 (m, 2 H, $\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{Si}$), 0.53 (m, 24 H, SiCH_2 , superpuestas), 0.61 (m, 16 H, $\text{CH}_2\text{SiC}_2\text{H}_4\text{S}$, superpuestas), 0.85 (m, 22 H, $(\text{CH}_3)_2\text{CH}$ y $\text{SiCH}_2\text{CH}_2\text{S}$), 1.18 (m, 2 H, $\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{Si}$), 1.28 (m, 15 H, $\text{SiCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{Si}$ y $\text{CH}(\text{CH})_3\text{CO}$, superpuestas), 1.48 (m, 2 H, $\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{Si}$), 1.79 (m, 1 H, $(\text{CH}_3)_2\text{CH}$), 2.40 (d, $J_a = 6.8$ Hz, CH_2Ar), 2.60 (t, $J_b = 8.2$ Hz, 16 H, $\text{SiCH}_2\text{CH}_2\text{S}$), 2.74 (s, 48 H, $-\text{NMe}_2\text{H}^+$), 2.88 (m, 16 H, $\text{SCH}_2\text{CH}_2\text{N}^+$), 3.11 (m, 16 H, CH_2N^+), 3.72 (m, 1 H, CHCO), 4.01 (m, 2 H, OCH_2), 7.09 y 7.14 (m, 4 H, Ar, C-H). RMN- $^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ (DMSO- d_6): δ -5.7, -5.5 y -5.3 (SiCH_3), 12.5 ($\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{Si}$), 13.5 ($\text{SiCH}_2\text{CH}_2\text{S}$), 17.3–17.9

(SiCH₂CH₂CH₂Si y (CH₃)CH), 19.2 (OCH₂CH₂CH₂CH₂Si), 21.7 ((CH₃)₂CH), 24.2 (SCH₂CH₂N⁺), 26.0 (SiCH₂CH₂S), 29.1 ((CH₃)₂CH), 31.4 (OCH₂CH₂CH₂CH₂Si), 41.3 (-NMe₂H⁺), 43.8 (CH₂Ar), 43.8 (CHCO), 55.2 (CH₂N⁺), 63.1 (OCH₂), 126.5 y 128.5 (Ar, C-H), 137.4 y 139.2 (Ar, C_{ipso}), 173.4 (C=O). RMN-¹⁵N (DMSO-d₆): δ -338.4 (-NMe₂H⁺). RMN-²⁹Si (DMSO-d₆): δ 1.8 (G₁-SiMe), 1.1 (G₂-SiMe), 2.4 (G₃-SiMe). ESI: q=2 (936.58 [M-3HCl-5Cl]⁵⁺), q=3 (624.73 [M-5HCl-3Cl]³⁺), q=4 (468.80 [M-4HCl-4Cl]⁴⁺), q=5 (375.24 [M-3HCl-5Cl]⁵⁺). Anal. Calcd. C₉₀H₂₀₂Cl₈N₈O₂S₈Si₇ (2165.36 g/mol): C, 49.92; H, 9.40; N, 5.17; S, 11.85; Exp.: C, 45.14; H, 10.39; N, 4.22; S, 14.23.

4.5.2.32 Dendrones con ibuprofeno en el punto focal y grupos -NMe₂ periféricos (139-141)



Método sintético 7.

IbuCO₂G₁(S-NMe₂)₂ (139)

Datos: **136** (0.747 g, 1.16 mmol) y Na₂CO₃ (0.277 g, 2.61 mmol). Aceite amarillento (0.535 g, 81 %).

RMN-¹H (CDCl₃): δ -0.05 (s, 3 H, SiMe), 0.48 (t, J_a = 8.4 Hz, 2 H, CH₂SiC₂H₄S), 0.86 (m, 10 H, (CH₃)₂CH y SiCH₂CH₂S), 1.25 (m, 2 H, OCH₂CH₂CH₂), 1.44 (d, J_b = 7.2 Hz, 3 H, CH(CH₃)CO), 1.55 (m, 2 H, OCH₂CH₂), 1.80 (m, 1 H, (CH₃)₂CH), 2.22 (s, 12 H, -NMe₂), 2.42 (m, 2 H, CH₂Ar), 2.44 (m, 4 H, SCH₂CH₂N, superpuestas), 2.49 (m, 4 H, SiCH₂CH₂S, superpuestas), 2.57 (m, 4 H, SCH₂CH₂N), 3.64 (m, 1 H, CHCO), 4.01 (t, J_c = 6.5 Hz, 2 H, OCH₂), 7.06 y 7.14 (m, 4 H, Ar, C-H). RMN-¹³C{¹H} (CDCl₃): δ -5.5 (SiCH₃), 13.0 (OCH₂CH₂CH₂CH₂Si), 14.4 (SiCH₂CH₂S), 18.4 ((CH₃)CH), 19.9 (OCH₂CH₂CH₂CH₂Si), 22.3 ((CH₃)₂CH), 27.5 (SiCH₂CH₂S), 29.8 (SCH₂CH₂N),

30.1 ((CH₃)₂CH), 32.2 (OCH₂CH₂CH₂CH₂Si), 44.9 (CHCO), 45.1 (CH₂Ar), 45.3 (-NMe₂⁺), 59.2 (CH₂N), 64.0 (OCH₂), 127.0 y 129.2 (Ar, C-H), 137.7 y 140.4 (Ar, C_{ipso}), 174.7 (C=O). RMN-¹⁵N (CDCl₃): δ -352.3 (-NMe₂). RMN-²⁹Si (CDCl₃): δ 2.7 (G₁-SiMe). MALDI: [M+H]⁺ = 569.4 uma (calcd. = 569.4 uma). Anal. Calcd. C₃₀H₅₆N₂O₂S₂Si (568.99 g/mol): C, 63.33; H, 9.92; N, 4.92; S, 11.27; Exp.: C, 61.57; H, 8.57; N, 5.00; S, 10.16.

IbuCO₂G₂(S-NMe₂)₄ (140)

Datos: **137** (0.479 g, 0.42 mmol) y Na₂CO₃ (0.177 g, 1.67 mmol). Aceite amarillento (0.370 g, 88 %).

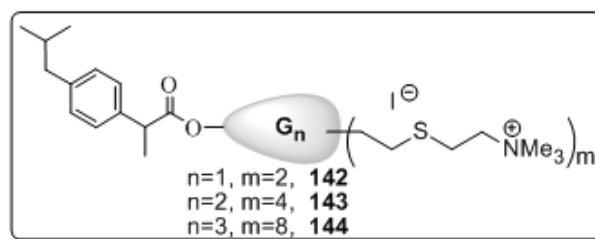
RMN-¹H (CDCl₃): δ -0.11 (s, 3 H, SiMe), 0.01 (s, 6 H, SiMeC₂H₄S), 0.53 (m, 2 H, OCH₂CH₂CH₂CH₂Si), 0.58 (m, 4 H, SiCH₂CH₂CH₂Si, superpuestas), 0.60 (m, 4 H, CH₂SiC₂H₄S, superpuestos), 0.88 (m, 14 H, (CH₃)₂CH y SiCH₂CH₂S), 1.25 (m, 6 H, OCH₂CH₂CH₂CH₂Si y SiCH₂CH₂CH₂Si), 1.47 (m, 3 H, CH(CH₃)CO), 1.57 (m, 2 H, OCH₂CH₂CH₂CH₂Si), 1.82 (m, 1 H, (CH₃)₂CH), 2.23 (s, 24 H, -NMe₂), 2.43 (m, 2 H, CH₂Ar), 2.49 (m, 8 H, SCH₂CH₂N, superpuestas), 2.50 (m, 8 H, SiCH₂CH₂S, superpuestas), 2.63 (m, 8 H, SCH₂CH₂N), 3.67 (m, 1 H, CHCO), 4.04 (m, 2 H, OCH₂), 7.08 y 7.16 (m, 4 H, Ar, C-H). RMN-¹³C{¹H} (CDCl₃): δ -5.4 y -5.3 (SiCH₃), 13.4 (OCH₂CH₂CH₂CH₂Si), 14.6 (SiCH₂CH₂S), 18.2–18.6 (SiCH₂CH₂CH₂Si y (CH₃)CH), 20.3 (OCH₂CH₂CH₂CH₂Si), 22.3 ((CH₃)₂CH), 27.6 (SiCH₂CH₂S), 29.8 (SCH₂CH₂N), 30.1 ((CH₃)₂CH), 32.3 (OCH₂CH₂CH₂CH₂Si), 45.0 (CHCO), 45.0 (CH₂Ar), 45.3 (-NMe₂), 59.2 (CH₂N), 64.3 (OCH₂), 127.0 y 129.2 (Ar, C-H), 137.8 y 140.3 (Ar, C_{ipso}), 174.1 (C=O). RMN-¹⁵N (CDCl₃): δ -352.2 (-NMe₂). RMN-²⁹Si (CDCl₃): δ 1.7 (G₁-SiMe), 1.9 (G₂-SiMe). MALDI: [M+H]⁺ = 1003.6 uma (calcd. = 1003.6 uma). Anal. Calcd. C₅₀H₁₀₂N₄O₂S₄Si₃ (1003.89 g/mol): C, 59.82; H, 10.24; N, 5.58; S, 12.78; Exp.: C, 59.42; H, 9.35; N, 6.10; S, 11.42.

IbuCO₂G₃(S-NMe₂)₈ (141)

Datos: **138** (0.365 g, 0.17 mmol) y Na₂CO₃ (0.143 g, 1.35 mmol). Aceite amarillento (0.252 g, 80 %).

RMN-¹H (CDCl₃): δ -0.12 (s, 3 H, SiMe), -0.11 (s, 6 H, SiMe), -0.01 (s, 12 H, SiMeC₂H₄S), 0.51 (m, 18 H, OCH₂CH₂CH₂CH₂Si y SiCH₂CH₂CH₂Si), 0.59 (m, 8 H, CH₂SiC₂H₄S, superpuestas), 0.90 (m, 22 H, (CH₃)₂CH y SiCH₂CH₂S), 1.24 (m, 14 H, OCH₂CH₂CH₂CH₂Si y SiCH₂CH₂CH₂Si), 1.45 (d, J = 7.2 Hz, 3 H, CH(CH₃)CO), 1.57 (m, 2 H, OCH₂CH₂CH₂CH₂Si), 1.83 (m, 1 H, (CH₃)₂CH), 2.23 (s, 48 H, -NMe₂), 2.47 (m, 18 H, CH₂Ar y SCH₂CH₂N), 2.52 (m, 16 H, SiCH₂CH₂S, superpuestas), 2.59 (m, 16 H, SCH₂CH₂N), 3.64 (m, 1 H, CHCO), 4.04 (m, 2 H, OCH₂), 7.05 y 7.17 (m, 4 H, Ar, C-H). RMN-¹³C{¹H} (CDCl₃): δ -5.3, -5.2 y -5.1 (SiCH₃), 13.5 (OCH₂CH₂CH₂CH₂Si), 14.6 (SiCH₂CH₂S), 18.3–18.8 (SiCH₂CH₂CH₂Si y (CH₃)CH), 20.2 (OCH₂CH₂CH₂CH₂Si), 22.4 ((CH₃)₂CH), 27.6 (SiCH₂CH₂S), 29.8 (SCH₂CH₂N), 30.1 ((CH₃)₂CH), 32.4 (OCH₂CH₂CH₂CH₂Si), 45.0 (CHCO), 45.1 (CH₂Ar), 45.4 (-NMe₂), 59.2 (CH₂N), 64.4 (OCH₂), 127.1 y 129.2 (Ar, C-H), 137.8 y 140.3 (Ar, C_{ipso}), 174.7 (C=O). RMN-¹⁵N (CDCl₃): δ -352.1 (-NMe₂). RMN-²⁹Si (CDCl₃): δ 1.6 (G₁-SiMe), 1.1 (G₂-SiMe), 1.8 (G₃-SiMe). MALDI: [M+H]⁺ = 1874.0 uma (calcd. = 1873.7 uma). Anal. Calcd. C₉₀H₁₉₄N₈O₂S₈Si₇ (1873.67 g/mol): C, 57.69; H, 10.44; N, 5.98; S, 13.69; Exp.: C, 56.38; H, 9.97; N, 6.37; S, 12.54.

4.5.2.33 Dendrones con ibuprofeno en el punto focal y grupos -NMe₃⁺ periféricos (142-144)



Método sintético 4.

IbuCO₂G₁(S-NMe₃⁺I⁻)₂ (142)

Datos: **139** (0.178 g, 0.30 mmol) y MeI (0.04 ml, 0.70 mmol). Sólido amarillento (0.203 g, 77 %).

RMN- ^1H (DMSO- d_6): δ 0.00 (s, 3 H, SiMe), 0.52 (t, $J_a = 7.9$ Hz, 2 H, CH_2Si), 0.84 (m, 10 H, $(\text{CH}_3)_2\text{CH}$ y $\text{SiCH}_2\text{CH}_2\text{S}$), 1.20 (m, 2 H, $\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{Si}$), 1.36 (d, $J_b = 6.9$ Hz, 3 H, $\text{CH}(\text{CH}_3)\text{CO}$), 1.52 (m, 2 H, OCH_2CH_2), 1.77 (m, 1 H, $(\text{CH}_3)_2\text{CH}$), 2.40 (d, $J_c = 6.9$ Hz, CH_2Ar), 2.58 (t, $J_d = 6.6$ Hz, 4 H, $\text{SiCH}_2\text{CH}_2\text{S}$), 2.89 (m, 4 H, $\text{SCH}_2\text{CH}_2\text{N}^+$), 3.09 (s, 18 H, $-\text{NMe}_3^+$), 3.50 (m, 4 H, CH_2N^+), 3.72 (m, 1 H, CHCO), 4.00 (m, 2 H, OCH_2), 7.11 y 7.15 (m, 4 H, Ar, C-H). RMN- $^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ (DMSO- d_6): δ -5.9 (SiCH $_3$), 11.9 ($\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{Si}$), 13.4 ($\text{SiCH}_2\text{CH}_2\text{S}$), 17.9 ($(\text{CH}_3)\text{CH}$), 18.9 ($\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{Si}$), 21.7 ($(\text{CH}_3)_2\text{CH}$), 23.1 ($\text{SCH}_2\text{CH}_2\text{N}^+$), 26.2 ($\text{SiCH}_2\text{CH}_2\text{S}$), 29.1 ($(\text{CH}_3)_2\text{CH}$), 31.3 ($\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{Si}$), 43.7 (CHCO), 43.7 (CH_2Ar), 51.6 ($-\text{NMe}_3^+$), 63.1 (OCH_2), 63.9 (CH_2N^+), 126.5 y 128.5 (Ar, C-H), 133.4 y 139.2 (Ar, C_{ipso}), 173.4 (C=O). RMN- ^{15}N (DMSO- d_6): δ -329.8 ($-\text{NMe}_3^+$). RMN- ^{29}Si (DMSO- d_6): δ 3.2 ($G_1-\text{SiMe}$). ESI: $q=1$ (725.31 $[\text{M}-\text{I}]^+$), $q=2$ (299.20 $[\text{M}-2\text{I}]^{2+}$). Anal. Calcd. $\text{C}_{32}\text{H}_{62}\text{I}_2\text{N}_2\text{O}_2\text{S}_2\text{Si}$ (852.87 g/mol): C, 45.06; H, 7.33; N, 3.28; S, 7.52; Exp.: C, 43.31; H, 7.05; N, 3.67; S, 7.36.

IbuCO $_2$ G $_2$ (S-NMe $_3^+$ I) $_4$ (143)

Datos: **140** (0.250 g, 0.25 mmol) y MeI (0.06 ml, 0.96 mmol). Sólido amarillento (0.383 g, 98 %).

RMN- ^1H (DMSO- d_6): δ -0.12 (s, 3 H, SiMe), 0.04 (s, 6 H, SiMeC $_2$ H $_4$ S), 0.54 (m 10 H, $\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{Si}$, $\text{SiCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{Si}$ y $\text{CH}_2\text{SiC}_2\text{H}_4\text{S}$), 0.86 (m, 14 H, $(\text{CH}_3)_2\text{CH}$ y $\text{SiCH}_2\text{CH}_2\text{S}$), 1.26 (m, 6 H, $\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{Si}$ y $\text{SiCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{Si}$), 1.35 (m, 3 H, $\text{CH}(\text{CH})_3\text{CO}$, superpuestas), 1.50 (m, 2 H, $\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{Si}$), 1.75 (m, 1 H, $(\text{CH}_3)_2\text{CH}$), 2.37 (d, $J_a = 6.8$ Hz, CH_2Ar), 2.62 (t, $J_b = 8.7$ Hz, 8 H, $\text{SiCH}_2\text{CH}_2\text{S}$), 2.88 (t, $J_c = 8.1$ Hz, 8 H, $\text{SCH}_2\text{CH}_2\text{N}^+$), 3.08 (s, 24 H, $-\text{NMe}_3^+$), 3.52 (t, $J_c = 7.9$ Hz, 8 H, CH_2N^+), 3.83 (m, 1 H, CHCO), 4.00 (m, 2 H, OCH_2), 7.11 y 7.14 (m, 4 H, Ar, C-H). RMN- $^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ (DMSO- d_6): δ -5.7 (SiCH $_3$), 12.3 ($\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{Si}$), 13.6 ($\text{SiCH}_2\text{CH}_2\text{S}$), 17.4–17.9 ($\text{SiCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{Si}$ y $(\text{CH}_3)\text{CH}$), 19.2 ($\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{Si}$), 21.7 ($(\text{CH}_3)_2\text{CH}$), 23.1 ($\text{SCH}_2\text{CH}_2\text{N}^+$), 26.3 ($\text{SiCH}_2\text{CH}_2\text{S}$), 29.1 ($(\text{CH}_3)_2\text{CH}$), 31.4 ($\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{Si}$), 43.7 (CH_2Ar), 43.7 (CHCO), 51.6 ($-\text{NMe}_3^+$), 63.1

(OCH₂), 63.9 (CH₂N⁺), 126.4 y 128.5 (Ar, C-H), 133.7 y 137.3 (Ar, C_{ipso}), 173.3 (C=O). RMN-¹⁵N (DMSO-d₆): δ -329.9 (-NMe₃⁺). RMN-²⁹Si (DMSO-d₆): δ 1.7 (G₁-SiMe), 2.4 (G₂-SiMe). Anal. Calcd. C₅₄H₁₁₄I₄N₄O₂S₄Si₃ (1571.67 g/mol): C, 41.27; H, 7.31; N, 3.56; Exp.: C, 40.15; H, 7.14; N, 3.49.

IbuCO₂G₃(S-NMe₃⁺I)₈ (144)

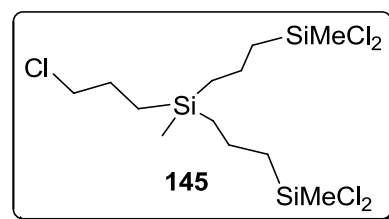
Datos: **141** (0.196 g, 0.10 mmol) y MeI (0.06 ml, 1.01 mmol). Sólido amarillo (0.293 g, 93 %).

RMN-¹H (DMSO-d₆): δ -0.09 (s, 9 H, SiMe), 0.04 (s, 12 H, SiMeC₂H₄S), 0.53 (m 26 H, OCH₂CH₂CH₂CH₂Si, SiCH₂CH₂CH₂Si y CH₂SiC₂H₄S), 0.84 (m, 22 H, (CH₃)₂CH y SiCH₂CH₂S), 1.26 (m, 14 H, OCH₂CH₂CH₂CH₂Si y SiCH₂CH₂CH₂Si), 1.35 (m, 3 H, CH(CH₃)₃CO, superpuestas), 1.29 (m, 2 H, OCH₂CH₂CH₂CH₂Si), 1.78 (m, 1 H, (CH₃)₂CH), 2.62 (m, 16 H, SiCH₂CH₂S), 2.90 (m, 16 H, SCH₂CH₂N⁺), 3.11 (s, 72 H, -NMe₃⁺), 3.55 (m, 16 H, CH₂N⁺), 3.98 (m, 2 H, OCH₂), 7.08 y 7.11 (m, 4 H, Ar, C-H). RMN-¹³C{¹H} (DMSO-d₆): δ -5.7 (SiCH₃), 13.6 (SiCH₂CH₂S), 17.4–17.8 (SiCH₂CH₂CH₂Si y (CH₃)CH), 19.2 (OCH₂CH₂CH₂CH₂Si), 21.7 ((CH₃)₂CH), 23.2 (SCH₂CH₂N⁺), 26.4 (SiCH₂CH₂S), 29.1 ((CH₃)₂CH), 43.7 (CH₂Ar), 51.7 (-NMe₃⁺), 63.1 (OCH₂), 63.9 (CH₂N⁺), 126.5 y 128.5 (Ar, C-H). RMN-²⁹Si (DMSO-d₆): δ 1.8 (G₁-SiMe), 0.9 (G₂-SiMe), 2.3 (G₂-SiMe). ESI: q=2 (1376.36 [M-2I]²⁺), q=3 (875.29 [M-3I]³⁺), q=4 (625.75 [M-4I]⁴⁺). Anal. Calcd. C₉₈H₂₁₈I₈N₈O₂S₈Si₇ (3009.18 g/mol): C, 39.12; H, 7.30; N, 3.72; S, 8.52; Exp.: C, 37.40; H, 7.19; N, 3.98; S, 8.19.

4.5.2.34 Cuña dendrítica con cloro en el punto focal y dos grupos -SiMeCl₂ terminales ClG₂(SiCl₂)₂ (145)

Método sintético 1b.

Datos: ClG₁A₂¹⁰ (2.506 g, 12.37 mmol) y HSiMeCl₂ (5.1 ml, 49.46 mmol). Líquido transparente (5.299 g, 99 %).

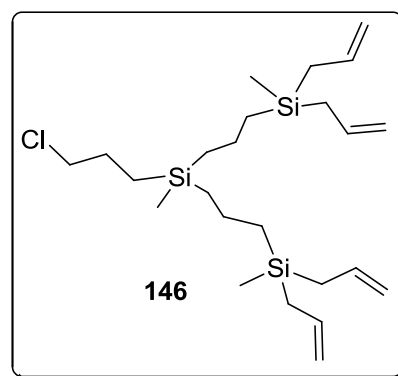


RMN- ^1H (CDCl_3): δ -0.01 (s, 3 H, *SiMe*), 0.66 (m, 6 H, $\text{ClCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{SiCH}_2$), 0.76 (s, 6 H, *MeSiCl}_2*), 1.19 (m, 4 H, $\text{CH}_2\text{SiMeCl}_2$), 1.52 (m, 4 H, $\text{SiCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{Si}$), 1.74 (m, 2 H, ClCH_2CH_2), 3.50 (t, $J = 7.0$ Hz, 2 H, ClCH_2). RMN- $^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ (CDCl_3): δ -5.3 (*SiMe*), 5.4 (*MeSiCl}_2*), 11.2 ($\text{ClCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2$), 17.2 (SiCH_2), 17.2 (SiCH_2CH_2), 25.8 (CH_2SiCl_2), 27.5 (ClCH_2CH_2), 47.9 (ClCH_2). RMN- ^{29}Si (CDCl_3): δ 2.3 (*MeSi*), 32.2 (*MeSiCl}_2*).

4.5.2.35 Cuña dendrítica con cloro en el punto focal y cuatro grupos alilo terminales ClG_2A_4 (146)

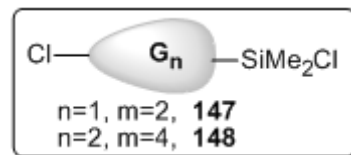
Método sintético 2.

Datos: **145** (5.299 g, 12.40 mmol) y MgBrC_3H_5 (59.4 ml, 59.40 mmol). Líquido transparente (5.246 g, 94 %).



RMN- ^1H (CDCl_3): δ -0.07 (s, 3 H, *MeSi*), -0.03 (s, 6 H, *MeSi(C}_3\text{H}_5)_2*), 0.58 (m, 8 H, CH_2Si), 1.32 (m, 4 H, $\text{SiCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{Si}$), 1.52 (d, $J_b = 8.2$ Hz, 8 H, SiCH_2CH), 1.72 (m, 2 H, ClCH_2CH_2), 3.47 (t, $J_c = 6.9$ Hz, 2 H, ClCH_2), 4.83 (m, 8 H, $\text{CH}=\text{CH}_2$), 5.75 (m, 4 H, $\text{CH}=\text{CH}_2$). RMN- $^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ (CDCl_3): δ -5.8 (*MeSi(C}_3\text{H}_5)_2*), -5.2 (*MeSi*), 11.5 ($\text{ClCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2$), 17.9, 18.1 y 18.5 ($\text{SiCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{Si}$), 21.3 ($\text{CH}_2\text{CH}=\text{CH}_2$), 27.7 (ClCH_2CH_2), 48.0 (ClCH_2), 113.0 ($\text{CH}=\text{CH}_2$), 134.8 ($\text{CH}=\text{CH}_2$); RMN- ^{29}Si (CDCl_3): δ 2.0 ($G_1\text{-SiMe}$), 0.1 ($G_2\text{-SiMe}$). Anal. Calc. $\text{C}_{25}\text{H}_{49}\text{ClSi}_3$ (469.37 g/mol): C, 63.97; H, 10.52; Exp.: C, 65.60; H, 10.10.

4.5.2.36 Cuñas dendríticas con cloro en el punto focal y grupos -SiMe₂Cl terminales (147-148)



Método sintético 1b.

ClG₁(SiCl)₂ (147)

Datos: ClG₁A₂¹⁰ (1.000 g, 4.99 mmol) y HSiMe₂Cl (2.15 ml, 19.77 mmol). Aceite incoloro (1.914 g, 98 %).

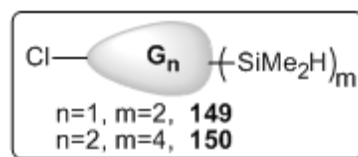
RMN-¹H (CDCl₃): δ -0.05 (s, 3 H, MeSi), 0.38 (s, 12 H, Me₂SiCl), 0.52 (m, 6 H, SiCH₂), 0.88 (m, 4 H, CH₂SiCl), 1.25 (m, 6 H, CH₂), 1.85 (m, 2 H, ClCH₂CH₂), 3.47 (t, J = 6.9 Hz, 2 H, ClCH₂). RMN-¹³C{¹H} (CDCl₃): δ -5.2 (MeSi), 1.8 (Me₂Si), 11.4 (ClCH₂CH₂CH₂), 17.6 (CH₂), 17.8 (CH₂), 23.4 (CH₂SiCl), 27.6 (ClCH₂CH₂), 48.0 (ClCH₂). RMN-²⁹Si (CDCl₃): δ 2.3 (MeSi), 31.1 (Me₂SiCl).

ClG₂(SiCl)₄ (148)

Datos: **135** (1.058 g, 2.33 mmol) y HSiMe₂Cl (2.0 ml, 18.38 mmol). Aceite transparente (1.861 g, 96 %).

RMN-¹H (CDCl₃): δ -0.04 (s, 6 H, MeSi), 0.03 (s, 3 H, SiMe), 0.39 (s, 24 H, Me₂SiCl), 0.51 (m, 18 H, SiCH₂), 0.87 (m, 8 H, CH₂SiCl), 1.24 (m, 4 H, SiCH₂CH₂CH₂Si), 1.86 (m, 2 H, ClCH₂CH₂), 3.46 (t, J = 6.9 Hz, 2 H, ClCH₂). RMN-¹³C{¹H} (CDCl₃): δ -5.0 (MeSi), 1.8 (Me₂Si), 11.6 (ClCH₂CH₂CH₂), 17.7-18.7 (SiCH₂CH₂CH₂Si), 23.5 (CH₂SiCl), 27.8 (ClCH₂CH₂), 48.1 (ClCH₂); RMN-²⁹Si (CDCl₃): δ 2.1 (MeSi), 31.1 (Me₂SiCl).

4.5.2.37 Cuñas dendríticas con cloro en el punto focal y grupos -SiMe₂H terminales (149-150)



Método sintético 3.

CIG₁(SiH)₂ (149)

Datos: **147** (0.229 g, 0.58 mmol) y LiAlH₄ (0.33 ml, 0.66 mmol). Aceite incoloro (0.145 g, 76 %).

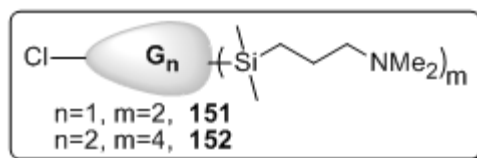
RMN-¹H (CDCl₃): δ -0.07 (s, 3 H, *Me*Si), 0.03 (d, J = 3.8 Hz, 12 H, *Me*₂SiH), 0.59 (m, 10 H, SiCH₂), 1.34 (m, 4 H, SiCH₂CH₂CH₂Si), 1.72 (m, 2 H, ClCH₂CH₂), 3.47 (t, J = 6.9 Hz, 2 H, ClCH₂), 3.81 (m, 2 H, SiH); RMN-¹³C{¹H} (CDCl₃): δ -5.2 (*Me*Si), -4.4 (*Me*₂SiH), 11.6 (ClCH₂CH₂CH₂), 17.8, 18.8 y 18.9 (SiCH₂CH₂CH₂Si), 27.7 (ClCH₂CH₂), 48.1 (ClCH₂). RMN-²⁹Si (CDCl₃): δ -14.1 (*Me*₂SiH), 2.3 (*Me*Si). Anal. Calc. C₁₄H₃₅ClSi₃ (323.14 g/mol): C, 52.04; H, 10.92; Obt.: C, 52.45; H, 10.60.

CIG₂(SiH)₄ (150)

Datos: **148** (1.861 g, 2.24 mmol) y LiAlH₄ (2.60 ml, 5.20 mmol). Aceite incoloro (1.158 g, 75 %).

RMN-¹H (CDCl₃): δ -0.09 y -0.06 (s, 9 H, *Me*Si), 0.04 (d, J = 3.9 Hz, 24 H, *Me*₂SiH), 0.59 (m, 26 H, SiCH₂), 1.36 (m, 6 H, SiCH₂CH₂CH₂Si), 1.72 (m, 2 H, ClCH₂CH₂), 3.48 (t, J = 7.0 Hz, 2 H, ClCH₂), 3.84 (m, 4 H, SiH). RMN-¹³C{¹H} (CDCl₃): δ -5.0 (*Me*Si), -4.4 (*Me*₂SiH), 11.7 (ClCH₂CH₂CH₂), 18.1-19.0 (SiCH₂CH₂CH₂Si), 27.8 (ClCH₂CH₂), 48.1 (ClCH₂). RMN-²⁹Si (CDCl₃): δ -14.1 (*Me*₂SiH), 1.1 (*G*₂-*Si*Me), 2.1 (*G*₁-*Si*Me). Anal. Calc. C₃₂H₇₉ClSi₇ (696.02 g/mol): C, 55.22; H, 11.44; Obt.: C, 56.45; H, 11.04.

4.5.2.38 Cuñas dendríticas con cloro en el punto focal y grupos -NMe₂ terminales (151-152)



Método sintético 1a.

CIG₁(Si-NMe₂)₂ (151)

Datos: **149** (0.145 g, 0.44 mmol), C₃H₅NMe₂ (0.21 ml, 1.76 mmol). Aceite amarillento (0.194 g, 88 %).

RMN-¹H (CDCl₃): δ -0.06 (s, 12 H, SiMe₂), 0.04 (s, 3 H, SiMe), 0.44 (t, J_a = 8.4 Hz, 4 H, SiCH₂CH₂CH₂N), 0.57 (m, 10 H, SiCH₂CH₂CH₂Si y ClCH₂CH₂CH₂Si), 1.29 (m, 4 H, SiCH₂CH₂CH₂Si), 1.42 (m, 4 H, SiCH₂CH₂CH₂N), 1.72 (m, 2 H, ClCH₂CH₂), 2.19 (m, 16 H, -NMe₂ y CH₂NMe₂), 3.47 (t, J_b = 6.9 Hz, 2 H, ClCH₂). RMN-¹³C{¹H} (CDCl₃): δ -5.2 (SiCH₃), -3.4 (SiMe₂), 11.6 (ClCH₂CH₂CH₂Si), 12.8 (SiCH₂CH₂CH₂N), 18.3, 18.5 y 20.0 (SiCH₂CH₂CH₂Si), 22.1 (SiCH₂CH₂CH₂NMe₂), 27.7 (ClCH₂CH₂), 45.5 (-NMe₂), 48.1 (ClCH₂), 63.4 (CH₂NMe₂). MALDI: [M+H]⁺ = 493.4 uma (calcd. = 493.4 uma). RMN-²⁹Si (CDCl₃): δ 2.2 (G₁ SiMe), 1.8 (G₁-SiMe₂). Anal. Calc. C₂₄H₅₇ClN₂Si₃ (493.43 g/mol): C, 58.42; H, 11.64; N, 5.68; Exp.: C, 55.19; H, 10.57; N, 4.81.

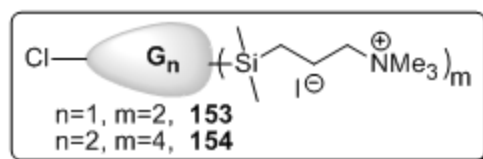
CIG₂(Si-NMe₂)₄ (152)

Datos: **150** (0.512 g, 0.74 mmol), C₃H₅NMe₂ (0.70 ml, 5.91 mmol). Aceite amarillento (0.763 g, 82 %).

RMN-¹H (CDCl₃): δ -0.07 (s, 24 H, SiMe₂), 0.03 (s, 9 H, SiMe), 0.45 (m, 8 H, SiCH₂CH₂CH₂N), 0.56 (m, 26 H, SiCH₂CH₂CH₂Si y ClCH₂CH₂CH₂Si, superpuestas), 1.30 (m, 8 H, SiCH₂CH₂CH₂Si), 1.41 (m, 8 H, SiCH₂CH₂CH₂N), 1.73 (m, 2 H, ClCH₂CH₂), 2.18 (m, 32 H, -NMe₂ y CH₂NMe₂), 3.46 (t, J_b = 6.8 Hz, 2 H, ClCH₂). RMN-¹³C{¹H} (CDCl₃): δ -5.1 y -5.0 (SiCH₃), -3.3 (SiMe₂), 11.6 (ClCH₂CH₂CH₂Si), 12.9 (SiCH₂CH₂CH₂N), 18.4-20.1 (SiCH₂CH₂CH₂Si),

22.1 (SiCH₂CH₂CH₂NMe₂), 27.8 (ClCH₂CH₂), 45.5 (-NMe₂), 48.1 (ClCH₂), 63.4 (CH₂NMe₂). RMN-¹⁵N (CDCl₃): δ -352.3 (-NMe₂). RMN-²⁹Si (CDCl₃): δ 2.1 (G₁ SiMe), 0.9 (G₂-SiMe), 1.9 (G₂-SiMe₂). MALDI: [M+H]⁺ = 1035.8 uma (calcd. = 1035.8 uma). Anal. Calc. C₅₂H₁₂₃ClN₄Si₇ (1036.61 g/mol): C, 60.25; H, 11.96; N, 5.40; Exp.: C, 58.53; H, 11.10; N, 4.62.

4.5.2.39 Cuñas dendríticas con cloro en el punto focal y grupos -NMe₃⁺ terminales (153-154)



Método sintético 4.

ClG₁(Si-NMe₃⁺I⁻)₂ (153)

Datos: **151** (0.220 g, 0.44 mmol) y MeI (0.11 ml, 1.76 mmol). Sólido blanco (0.300 g, 87 %).

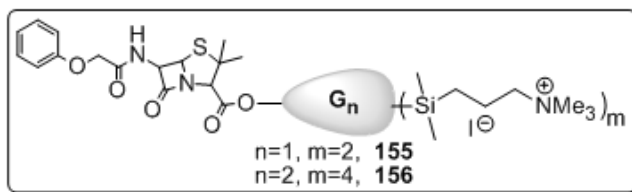
RMN-¹H (DMSO-d₆): δ -0.07 (s, 3 H, SiMe), 0.00 (s, 12 H, SiMe₂), 0.38 y 0.56 (m, 14 H, SiCH₂), 1.31 (m, 4 H, SiCH₂CH₂CH₂Si), 1.62 (m, 6 H, CH₂CH₂N⁺ y ClCH₂CH₂), 3.05 (s, 18 H, -NMe₃⁺), 3.25 (t, J_a = 7.8 Hz, 4 H, CH₂N⁺), 2.58 (t, J_b = 6.5 Hz, ClCH₂). RMN-¹³C {¹H} (DMSO-d₆): δ -5.6 (SiCH₃), -3.9 (SiMe₂), 10.6 (SiCH₂CH₂CH₂N⁺), 16.4-17.4 (SiCH₂CH₂CH₂Si), 18.6 (CH₂CH₂N⁺), 26.7 (ClCH₂CH₂), 47.8 (ClCH₂), 51.6 (Si-NMe₃⁺), 67.4 (SiCH₂CH₂CH₂NMe₃⁺). RMN-²⁹Si (DMSO-d₆): δ 2.1 (SiMe), 2.4 (SiMe₂). ESI: q=1 (649.31 [M-I]⁺). Anal. Calc. C₂₆H₆₃ClI₂N₂Si₃ (777.31 g/mol): C, 40.17; H, 8.17; N, 3.60; Exp.: C, 43.78; H, 8.39; N, 2.93.

ClG₂(Si-NMe₃⁺I⁻)₄ (154)

Datos: **152** (0.638 g, 0.62 mmol) y MeI (0.16 ml, 2.59 mmol). Sólido blanco (0.805 g, 81 %).

RMN-¹H (DMSO-d₆): δ -0.09 (s, 9 H, SiMe), -0.01 (s, 24 H, SiMe₂), 0.37 y 0.57 (m, 34 H, SiCH₂, superpuestas), 1.30 (m, 12 H, SiCH₂CH₂CH₂Si), 1.61 (m, 10 H, CH₂CH₂N⁺ y ClCH₂CH₂), 3.03 (s, 36 H, -NMe₃⁺), 3.23 (t, J_a = 8.3 Hz, 8 H, CH₂N⁺), 3.57 (t, J_b = 6.4 Hz, 2 H, ClCH₂). RMN-¹³C{¹H} (DMSO-d₆): δ -5.3 (SiCH₃), -3.9 (SiMe₂), 10.7 (SiCH₂CH₂CH₂N⁺), 16.4–17.7 (SiCH₂CH₂CH₂Si), 18.8 (CH₂CH₂N⁺), 26.7 (ClCH₂CH₂), 47.8 (ClCH₂), 51.6 (Si-NMe₃⁺), 67.4 (SiCH₂CH₂CH₂NMe₃⁺). RMN-¹⁵N (DMSO-d₆): δ -322.0 (-NMe₃⁺). RMN-²⁹Si (CDCl₃): δ 2.2 (G₁-Si), 1.1 (G₂-SiMe), 2.4 (G₂-SiMe₂). ESI: q=2 (674.35; [M-2I]²⁺), q=3 (407.28; [M-3I]³⁺) y q=4 (273.7; [M-4I]⁴⁺). Anal. Calc. C₅₆H₁₃₅ClI₄N₄Si₇ (1604.37 g/mol): C, 41.92; H, 8.48; N, 3.49; Exp.: C, 42.22; H, 8.27; N, 3.46.

4.5.2.40 Cuñas dendríticas con penicilina en el punto focal y grupos -NMe₃⁺ terminales (155-156)



A una disolución en DMF seco de dendrón ClG_n(Si-NMe₃⁺)_m (**153-154**) se añaden 1.05 equivalentes de penicilina V potásica, en presencia de 0.1 equivalentes de 18-corona-6 y cantidades catalíticas de yoduro de sodio. Tras dos noches calentando a 80 °C para la primera generación o 100 °C para la segunda generación, se eliminan los volátiles.

En el caso del dendrón de primera generación PenCO₂G₁(Si-NMe₃⁺)₂, soluble en disolventes orgánicos pero no en disoluciones acuosas, el residuo se lava con agua con el fin de purificarlo.

En el caso del dendrón de segunda generación PenCO₂G₂(Si-NMe₃⁺)₄, soluble en disoluciones acuosas, la purificación se realiza mediante nanofiltración con una membrana de corte de peso molecular 500 g/mol.

PenCO₂G₁(Si-NMe₃⁺I⁻)₂ (155)

Datos: **153** (0.050 g, 0.06 mmol), PenCO₂K (0.027 g, 0.07 mmol) y 18C6 (0.002 g, 0.01 mmol). Sólido blanco altamente higroscópico (0.062 g, 89 %).

RMN-¹H (CDCl₃): δ 0.00 (s, 12 H, SiMe₂), 0.04 (s, 3 H, SiMe), 0.57 (m, 14 H, SiCH₂), 1.29 (m, 4 H, SiCH₂CH₂CH₂Si), 1.48 (s, 3 H, CMe₂), 1.58 (s, 3 H, CMe₂), 1.70 (m, 6 H, CH₂CH₂N⁺ y OCH₂CH₂), 3.41 (s, 18 H, -NMe₃⁺), 3.63 (m, 4 H, CH₂N⁺), 4.08 (t, J_a = 8.4 Hz, 2 H, (CO)OCH₂), 4.43 (s, 1 H, CH(CO)), 4.53 (s, 2 H, OCH₂CO), 5.56 (d, J_b = 4.3 Hz, 1 H, CHS), 5.70 (m, 1 H, NHCH), 6.90 (d, J_c = 7.6 Hz, 2 H, CH_{Ar}), 7.01 (t, J_d = 7.4 Hz, 1 H, CH_{Ar}), 7.30 (m, 2 H, CH_{Ar}). RMN-¹³C{¹H} (CDCl₃): δ -5.0 (SiCH₃), -3.2 (SiMe₂), 9.9 (CH₂Si), 11.4 (SiCH₂CH₂CH₂N⁺), 17.9, 18.0 y 18.3 (SiCH₂CH₂CH₂Si), 19.8 (CH₂CH₂N⁺), 23.2 (OCH₂CH₂), 26.8 y 32.0 (SCMe₂), 53.7 (-NMe₃⁺), 58.0 (Si-NHCH), 64.7 (SCMe₂), 67.1 (CH₂N⁺), 67.7 (OCH₂CO), 68.4 (COOCH₂), 69.5 (CHS), 70.5 (CHCOO), 114.7 (CH_{Ar}), 122.4 (CH_{Ar}), 129.8 (CH_{Ar}), 156.8 (CO_{Ar}), 167.6, 167.8 y 173.0 (C=O). RMN-¹⁵N (DMSO-d₆): δ -321.9 (-NMe₃⁺). RMN-²⁹Si (CDCl₃): δ 2.1 (G₁-SiMe), 2.5 (G₁-SiMe₂). ESI: q=1 (963.42 [M-I]⁺), q=2 (418.26 [M-2I]²⁺). Anal. Calc. C₄₂H₈₀I₂N₄O₅SSi₃ (1091.24 g/mol): C, 46.23; H, 7.39; N, 5.13; Exp.: C, 45.84; H, 7.07; N, 4.43.

PenCO₂G₂(Si-NMe₃⁺I⁻)₄ (156)

Datos: **154** (0.120 g, 0.07 mmol) PenCO₂K (0.030 g, 0.08 mmol) y 18C6 (0.002 g, 0.01 mmol). Sólido blanco altamente higroscópico (0.136 g, 93 %).

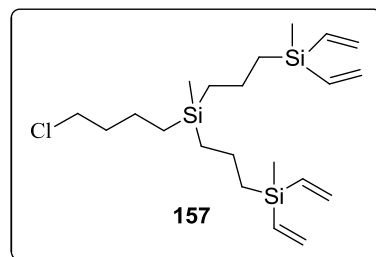
RMN-¹H (DMSO-d₆): δ -0.13 (s, 9 H, SiMe), 0.00 (s, 24 H, SiMe₂), 0.41 y 0.57 (m, 34 H, SiCH₂), 1.27 (m, 12 H, SiCH₂CH₂CH₂Si), 1.61 (m, 16 H, CMe₂, CH₂CH₂N⁺ y OCH₂CH₂), 3.07 (s, 36 H, -NMe₃⁺), 3.21 (m, 8 H, CH₂N⁺), 4.07 (m, 2 H, (CO)OCH₂), 4.41 (s, 1 H, CH(CO)), 4.58 (s, 2 H, OCH₂CO), 5.57 (m, 1 H, CHS), 5.61 (m, 1 H, NHCH), 6.97 (m, 3 H, CH_{Ar}), 7.31 (m, 2 H, CH_{Ar}). RMN-¹³C{¹H} (DMSO-d₆): δ -5.6 y -5.4 (SiCH₃), -3.9 (SiMe₂), 8.9 (OCH₂CH₂CH₂Si), 10.6 (SiCH₂CH₂CH₂N⁺), 16.4-17.7 (SiCH₂CH₂CH₂Si), 18.7 (CH₂CH₂N⁺), 22.1 (OCH₂CH₂ y SC(Me)₂), 51.6 (-NMe₃⁺), 57.9 (Si-NHCH), 63.5 (SCMe₂), 65.6

(OCH₂CO), 66.9 (OCH₂), 67.4 (CH₂N⁺), 69.4 (CHCOO), 113.9 (CH_{Ar}), 120.7 (CH_{Ar}), 129.0 (CH_{Ar}), 157.0 (CO_{Ar}), 167.2, 167.3, y 172.5 (C=O). RMN-¹⁵N (DMSO-d₆): δ -322.0 (-NMe₃⁺). RMN-²⁹Si (DMSO-d₆): δ 1.1 (G₂-SiMe) 2.2 (G₁-SiMe), 2.4 (G₂-SiMe₂). ESI: q=2 (831.4; [M-2I]²⁺), q=3 (512.0; [M-3I]³⁺) y q=4 (352.2; [M-4I]⁴⁺). Anal. Calc. C₇₂H₁₅₂I₄N₆O₅SSi₇ (1918.29 g/mol): C, 45.08; H, 7.99; N, 4.38; Exp.: C, 42.50; H, 8.58; N, 4.97.

4.5.2.41 Cuña ClG₂V₄ (157)

Método sintético 2.

Datos: **145** (0.829 g, 1.92 mmol) y MgClC₂H₃ (11.51 ml, 18.42 mmol). Líquido transparente (0.605 g, 80 %).

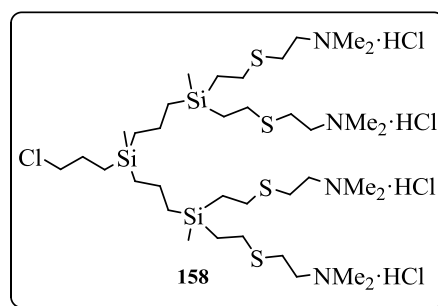


RMN-¹H (CDCl₃): δ -0.08 (s, 3 H, MeSi), 0.11 (s, 6 H, MeSiC₂H₃), 0.55 (m, 6 H, ClCH₂CH₂CH₂SiCH₂), 0.69 (t, J_a = 8.1 Hz, 4 H, CH₂SiC₂H₃), 1.33 (m, 4 H, SiCH₂CH₂CH₂Si), 1.70 (m, 2 H, ClCH₂CH₂), 3.46 (t, J_b = 6.8 Hz, 2 H, ClCH₂), 5.68 y 6.07 (m, 6 H, SiCHCH₂). RMN-¹³C{¹H} (CDCl₃): δ -5.2 (MeSi), 11.6 (ClCH₂CH₂CH₂), 18.2, 18.4 y 18.7 (SiCH₂CH₂CH₂Si), 27.8 (ClCH₂CH₂), 48.1 (ClCH₂), 132.7 (CH=CH₂), 137.0 (CH=CH₂). RMN-²⁹Si (DMSO-d₆): δ 2.2 (G₁-SiMe), -13.4 (G₂-SiMe). Anal. Calc. C₂₁H₄₁ClSi₃ (413.26 g/mol): C, 61.03; H, 10.00; Exp.: C, 61.42; H, 9.66.

4.5.2.42 Cuña ClG₂(S-NMe₂·HCl)₄ (158)

Método sintético 6a.

Datos: **157** (0.212 g, 0.54 mmol), hidrocloreto de 2-(dimetilamino)etanotiol (0.333 g, 2.23 mmol) y DMPA (0.054 g, 0.21 mmol). Sólido blanco (0.306 g, 60 %).



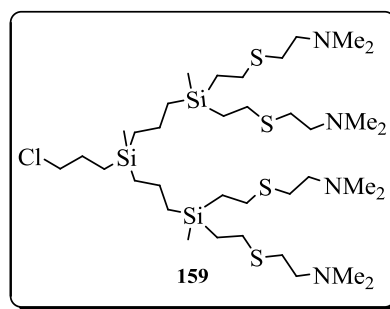
RMN-¹H (DMSO-d₆): δ -0.06 (s, 3 H, SiMe), 0.02 (s, 6 H, SiMeC₂H₄S), 0.59 (SiCH₂), 0.87 (t, J_a = 8.2 Hz, 8 H, SiCH₂CH₂S), 1.31 (m, 10 H, SiCH₂CH₂), 1.66 (m, 2 H, ClCH₂CH₂), 2.60 (t, J_a = 8.4 Hz, 8 H, SiCH₂CH₂S), 2.73 (s, 24 H, -

$NMe_2 \cdot HCl$), 2.85 (t, $J_b = 7.3$ Hz, 8 H, SCH_2CH_2N), 3.20 (t, $J_b = 7.7$ Hz, 8 H, $SCH_2CH_2N^+$), 3.59 (t, $J_c = 6.5$ Hz, 2 H, $ClCH_2$). RMN- $^{13}C\{^1H\}$ (DMSO- d_6): δ -5.71 (*SiMe*), 10.4 ($ClCH_2CH_2CH_2$), 13.5 ($SiCH_2CH_2S$), 17.2 - 17.4 ($SiCH_2CH_2CH_2Si$), 24.2 ($SCH_2CH_2N^+$), 26.0 ($SiCH_2CH_2S$), 26.8 ($ClCH_2CH_2$), 41.4 ($-NMe_2 \cdot HCl$), 47.9 ($ClCH_2$), 55.3 (CH_2N^+). RMN- ^{15}N (DMSO- d_6): -339.0 ($-NMe_2H^+$). RMN- ^{29}Si (DMSO- d_6): δ 2.2 (G_1-SiMe), 2.4 (G_2-SiMe). ESI: $q=1$ (819.46 $[M-3HCl-Cl]^+$), $q=2$ (410.24 $[M-2HCl-2Cl]^{2+}$), $q=3$ (273.82 $[M-HCl-3Cl]^{3+}$). Anal. Calc. $C_{36}H_{87}Cl_5N_4S_4Si_3$ (965.88 g/mol): C, 44.77; H, 9.08; N, 5.80; S, 13.28; Exp.: C, 42.94; H, 8.93; N, 5.49; S, 11.44.

4.5.2.43 Cuña $ClG_2(S-NMe_2)_4$ (159)

Método sintético 7.

Datos: **158** (0.210 g, 0.22 mmol) y Na_2CO_3 (0.092 g, 0.87 mmol). Aceite amarillento (0.174 g, 98 %).

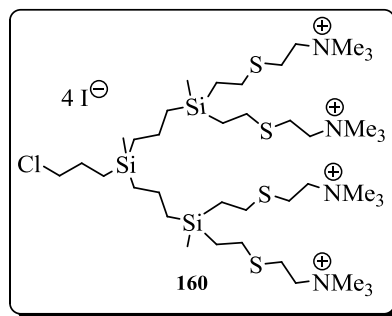


RMN- 1H ($CDCl_3$): δ -0.06 (s, 3 H, *SiMe*), 0.00 (s, 6 H, *SiMe*), 0.58 (m, 10 H, $ClCH_2CH_2CH_2Si$ y $SiCH_2CH_2CH_2Si$), 0.88 (t, $J_a = 8.7$ Hz, 8 H, $SiCH_2CH_2S$), 1.28 (m, 4 H, $SiCH_2CH_2CH_2Si$), 1.70 (m, 2 H, $ClCH_2CH_2$), 2.24 (s, 24 H, $-NMe_2$), 2.47 (m, 8 H, SCH_2CH_2N), 2.52 (m, 8 H, $SiCH_2CH_2S$, superpuestas), 2.59 (m, 8 H, SCH_2CH_2N , superpuestas), 3.49 (t, $J_b = 6.8$ Hz, 2 H, $ClCH_2$). RMN- $^{13}C\{^1H\}$ ($CDCl_3$): δ -5.3 (*MeSi*), 11.5 ($ClCH_2CH_2CH_2$), 14.6 ($SiCH_2CH_2S$), 18.2, 18.4 y 18.6 ($SiCH_2CH_2CH_2Si$), 27.7 ($SiCH_2CH_2S$), 29.9 (SCH_2CH_2N), 45.4 ($SiCH_2CH_2NMe_2$), 48.1 ($ClCH_2$), 59.3 (SCH_2CH_2N). RMN- ^{29}Si ($CDCl_3$): δ 2.1 (G_1-SiMe), 2.2 (G_2-SiMe). MALDI: $[M+H]^+ = 819.45$ uma (calcd. = 819.46 uma). Anal. Calc. $C_{36}H_{83}ClN_4S_4Si_3$ (820.04 g/mol): C, 52.73; H, 10.20; N, 6.83; S, 15.64; Exp.: C, 52.99; H, 10.38; N, 6.61; S, 12.84.

4.5.2.44 Cuña $\text{ClG}_2(\text{S-NMe}_3^+\text{I}^-)_4$ (**160**)

Método sintético 4.

Datos: **159** (0.174 g, 0.21 mmol) y MeI (0.06 ml, 0.96 mmol). Sólido blanco (0.250 g, 86 %).



RMN-¹H (DMSO-d₆): -0.06 (s, 3 H, SiMe), 0.03 (s, 6 H, SiMe), 0.56 (m, 10 H, ClCH₂CH₂CH₂Si y SiCH₂CH₂CH₂), 0.85 (m, 8 H, SiCH₂CH₂S), 1.30 (m, 4 H, SiCH₂CH₂CH₂), 1.67 (m, 2 H, ClCH₂CH₂CH₂Si), 2.56 (m, 8 H, SiCH₂CH₂S), 2.88 (m, 8 H, SCH₂CH₂N⁺), 3.07 (s, 36 H, -NMe₃⁺), 3.49 (m, 8 H, SCH₂CH₂N⁺). 3.57 (m, 2 H, ClCH₂). RMN-¹³C{¹H} (DMSO-d₆): δ -5.7 y -5.6 (MeSi), 10.3 (ClCH₂CH₂CH₂Si), 13.5 (SiCH₂CH₂S), 17.2, 17.3 y 17.5 (SiCH₂CH₂CH₂Si), 23.1 (SCH₂CH₂N⁺), 26.3 (SiCH₂CH₂S), 26.8 (ClCH₂CH₂), 47.9 (ClCH₂), 51.6 (-NMe₃⁺), 63.9 (CH₂N⁺). RMN-¹⁵N (DMSO-d₆): δ -330.1 (-NMe₃⁺). RMN-²⁹Si (DMSO-d₆): δ 2.2 (G₁-SiMe), 2.5 (G₂-SiMe). ESI: q=2 (566.18 [M-2I]²⁺), q=3 (335.15 [M-3I]³⁺), q=4 (219.64 [M-4I]⁴⁺). Anal. Calc. C₄₀H₉₅ClI₄N₄S₄Si₃ (1387.79 g/mol): C, 34.62; H, 6.90; N, 4.04; S, 9.24; Obt.: C, 35.29; H, 6.90; N, 3.96; S, 7.96.

4.5.2.45 Nanopartículas de oro estabilizadas por G_nO₃(S-NH₂)_m (Au-27n y Au-28n)

AuNP-27n

A 2.5 ml de una disolución 2 mM de G₂O₃(S-NH₂)₁₂ (**27n**), se añaden 2.5 ml de una disolución 2 mM de HAuCl₄ y se deja agitar durante 48 h a temperatura ambiente observándose la formación de una dispersión de color violeta.

Alternativamente a 2.5 ml de una disolución 2 mM de G₂O₃(S-NH₂)₁₂ (**27n**), se añaden 2.5 ml de una disolución 2 mM de HAuCl₄⁻ y 5.6 μM de una disolución 1.6 M de N₂H₄ y se deja reaccionar durante 30 minutos, observándose la formación de la misma dispersión violeta.

Las disoluciones de nanopartículas se almacenan en frío para evitar procesos de agregación posteriores. Las nanopartículas obtenidas mostraron ser estables durante periodos moderados de tiempo.

RMN-¹H (D₂O): δ -0.21 (s, 9 H, SiMe), -0.07 (s, 18 H, SiMe), 0.47 (m, 30 H, SiCH₂), 0.79 (m, 24 H, SiCH₂CH₂S), 1.20 (m, 18 H, SiCH₂CH₂CH₂Si) 2.49 (m, 24 H, SiCH₂CH₂S), 2.63 (m, 24 H, SCH₂CH₂N⁺), 2.87 (m, 24 H, SCH₂CH₂N⁺), 3.55 (m, 6 H, OCH₂), 5.71 (s, 3 H, C₆H₃O₃).

UV-Vis (H₂O): 532.1 nm (RSP). TEM: 22.3 ± 4.8 nm.

AuNP-28n

Se sigue un procedimiento análogo al descrito para **Au-27n** a partir de 2.0 ml de una disolución 2 mM de G₃O₃(S-NH₂)₂₄ (**28n**) y 2 ml de una disolución 2 mM de HAuCl₄, ambas en agua. Dicha disolución se deja agitar durante 24 h obteniéndose una dispersión rojo vino.

En el método alternativo la mezcla original es tratada con 3.8 µl de una disolución 1.6 M de hidracina.

RMN-¹H (D₂O): δ -0.21 (s, 27 H, SiMe), -0.07 (s, 36 H, SiMe), 0.47 (m, 72 H, SiCH₂), 0.79 (m, 48 H, SiCH₂CH₂S), 1.20 (m, 48 H, SiCH₂CH₂CH₂Si) 2.49 (m, 48 H, SiCH₂CH₂S), 2.63 (m, 48 H, SCH₂CH₂N⁺), 2.87 (m, 48 H, SCH₂CH₂N⁺).

UV-Vis (H₂O): 534.9 nm (RSP). TEM: 39.5 ± 6.0.

4.6 Bibliografía

- [1] Perrin, D. D., Armarego, W. L. F., *Purification of laboratory chemicals (3er Ed)*. Pergamon Press, Oxford: New York, **1988**.
- [2] Nasir, M. S., Jolley, M. E., *Comb. Chem. High Throughput Screening* **2** **1999**, 177.
- [3] a) Smoluchowsky, M., *Handbuch der Elektrizität und de Magnetismus*. 2 ed.; **1921**; b) Sze, A., Erickson, D., Ren, L., Li, D., *J. Colloid Interface Sci.* **2003**, 261, 402.
- [4] *Reference Methods for the testing the “in vitro” activity of antimicrobial agents against bacteria involved in infectious diseases. ISO 20776-1* **2006**.
- [5] Cuadrado, I., Morán, M., Losada, J., Casado, C. M., Pascual, C., Alonso, B., Lobete, F., *Organometallic dendritic macromolecules: organosilicon and organometallic entities as cores or building blocks en Advances in Dendritic Macdromolecules*. JAI Press: **1996**; Vol. 3, 151.
- [6] Sánchez-Nieves, J., Ortega, P., Muñoz-Fernández, M. Á., Gómez, R., de la Mata, F. J., *Tetrahedron* **2010**, 66, 9203.
- [7] Rissing, C., Son, D. Y., *Organometallics* **2008**, 27, 5394.
- [8] Strasak, T., Cermak, J., Sykora, J., Horsky, J., Walterova, Z., Jaroschik, F., Harakat, D., *Organometallics* **2012**, 31, 6779.
- [9] Camero-Padilla, A. Dendrímeros carbosilano funcionalizados en la periferia con grupos amino y amonio: reactividad y capacidad antibacteriana. Tesis de Máster, Universidad de Alcalá, Alcalá de Henares, **2011**.
- [10] Wolf, C., Pirkle, W. H., *J. Chromatogr. A* **1998**, 799, 177.

Capítulo 5

Conclusiones

Del trabajo presentado en esta memoria se desprenden las siguientes conclusiones:

I. Se pueden preparar dendrímeros catiónicos solubles en agua con grupos $-\text{NMe}_3^+$ periféricos a partir de dendrímeros funcionalizados con grupos Si-H a través de la reacción de hidrosililación de alildimetilamina, $\text{C}_3\text{H}_5\text{NMe}_2$, y posterior adición de MeI. Estos compuestos se obtienen con buenos rendimientos utilizando condiciones de hidrosililación suaves, comparadas con las utilizadas para hidrosililar otros derivados alilamino con grupos $-\text{NH}_2$ o $-\text{N}(\text{Et})\text{CH}_2\text{CH}_2\text{NMe}_2$.

II. La reacción de adición tiol-eno ha resultado ser un método sintético más simple y versátil que la hidrosililación para la preparación de dendrímeros catiónicos carbosilano, ya que su utilización permite funcionalizar los derivados con grupos vinilo terminales, G_nYV_m , de forma directa, sin necesidad de modificar previamente la periferia dendrítica. Además, esta reacción transcurre en condiciones suaves de reacción y tiempos relativamente cortos, en comparación a la hidrosililación y otras estrategias de funcionalización empleadas previamente en nuestro grupo de investigación. Finalmente, la utilización de esta estrategia sintética permitirá comprobar la influencia de la presencia de átomos de azufre cercanos a los átomos de nitrógeno en los ensayos biomédicos realizados, comparándolos con los derivados obtenidos por hidrosililación.

III. La versatilidad de la hidrotiolación ha permitido la preparación de dendrímeros esféricos heterofuncionalizados mediante reacción con dos tipos de tioles. De esta manera, en un mismo dendrímero se han introducido grupos catiónicos, que otorgan a estos compuestos solubilidad en agua, además de capacidad antibacteriana o la posibilidad de interaccionar con moléculas aniónicas, y otros fragmentos de interés biológico, como son un marcador fluorescente (fluoresceína) o un compuesto con capacidad antiinflamatoria (ibuprofeno). Dichos fragmentos proporcionan un valor añadido frente a las aplicaciones objetivo de este trabajo.

IV. La adición tiol-eno permite sintetizar también dendrones carbosilano catiónicos con distintos puntos focales de interés (azida, ftalimida, amina primaria, alcohol y fenol), que pueden utilizarse como bloques de construcción tanto para obtener materiales como para introducir unidades de interés biomédico. Así, se han sintetizado dendrones con fragmentos de interés en el punto focal: un marcador fluorescente (fluoresceína), un fármaco antiinflamatorio (ibuprofeno) y un antibiótico (penicilina).

V. La introducción de fragmentos de tipo ibuprofeno o penicilina en el punto focal de dendrones carbosilano a través de enlaces éster, permite su liberación en presencia de esterasas, lo que abre la puerta para su utilización como agentes transportadores de fármacos.

VI. Los dendrímeros $G_nO_3(S-NH_2)_m$ de segunda y tercera generación, **27n** y **28n**, producen la reducción del ión $HAuCl_4$, así como un efecto plantilla de las nanopartículas de oro formadas. Estas nanopartículas poseen un tamaño de en torno a 22 nm para el material **AuNP-27n**, y de en torno a 40 nm para el material **AuNP-29n**. La formación de dichas nanopartículas se acelera en presencia de hidracina como agente reductor. Esta reducción o efecto plantilla no se producen en presencia de compuestos dendríticos con grupos $-NMe_2$ o $-NMe_3^+$ periféricos.

VII. Los compuestos catiónicos sintetizados presentan una capacidad antibacteriana importante y de amplio espectro que parece estar modulada por un balance entre la hidrofobia y la hidrofilia, proporcionadas por el esqueleto carbosilano y los grupos periféricos, respectivamente. Los compuestos más activos son los dendrímeros de primera generación con núcleo polifenólico, los dendrones de segunda generación obtenidos por adición tiol-eno y el dendrímero de generación cero con núcleo de silicio obtenido por hidrosililación. Todos estos derivados poseen unas concentraciones mínima inhibitoria y bactericida para *E. coli* y *S. aureus* de entre 2 y 4 ppm.

VIII. Además, la actividad antibacteriana de estos compuestos se mantiene estable frente a cambios de pH y temperatura cuando los mismos poseen grupos $-NMe_3^+$ periféricos. Tan sólo se observa una disminución de la

actividad antibacteriana en aquellos compuestos obtenidos por hidrotiolación cuando son sometidos simultáneamente a altos valores de pH y temperatura, debido, probablemente, a procesos de eliminación tipo Hofmann, favorecidos por la presencia de los átomos de azufre.

IX. La actividad hemolítica de los derivados estudiados depende de varios factores teniendo una mejor biocompatibilidad las generaciones más bajas, aquellos compuestos con grupos $-\text{NMe}_3^+$ periféricos en lugar de $-\text{NH}_3^+$ y los compuestos obtenidos por adición tiol-eno. Este estudio ha permitido determinar que los compuestos $\text{G}_1\text{O}_3(\text{S-NMe}_3^+)_6$ (**46**) y $\text{HOC}_6\text{H}_4\text{OG}_2(\text{S-NMe}_3^+)_4$ (**121**) presentan el mejor balance entre actividad hemolítica y actividad antibacteriana.

X. El estudio de generación de resistencias realizado con los compuestos $\text{G}_1\text{O}_3(\text{S-NMe}_3^+)_6$ (**46**) y $\text{HOC}_6\text{H}_4\text{OG}_2(\text{S-NMe}_3^+)_4$ (**121**), muestra que estos compuestos no inducen resistencias en *Staphylococcus aureus* y *Escherichia coli*, aunque se observa una pequeña variación de la actividad del compuesto **46** frente a *S. aureus*. Finalmente estos compuestos mostraron ser igualmente activos frente a bacterias resistentes a algunos antibióticos de uso común demostrando ser buenos candidatos para el tratamiento de infecciones de este tipo.

XI. Estos resultados parecen extrapolables a otros agentes infecciosos (*Leishmania infantum* y *Acanthamoeba polyphaga*) presentando de nuevo el dendrímero $\text{G}_1\text{O}_3(\text{S-NMe}_3^+)_6$ (**46**), uno de los mejores balances entre toxicidad y actividad. Además, las tendencias observadas en la actividad son similares a las estudiadas en las bacterias, lo cual indica que la actividad microbicida puede seguir mecanismos similares frente a estos nuevos agentes. Sin embargo, la actividad microbicida frente a las cepas más resistentes de estos agentes infecciosos (promastigotes y quistes) no presenta una selectividad suficiente con respecto a células de mamífero que permita su utilización frente a las mismas.

XII. Los dendrímeros $\text{G}_n\text{O}_3(\text{S-NMe}_3^+)_m$ ($n = 1, 2, 3, 4$ y $m = 6, 12, 24$ y 48 ; **46-49**) son capaces de formar nanoconjugados con los péptidos aniónicos derivados de Gp160, P24 y Nef, aunque los dos últimos requieren menor exceso de carga positiva para unirse eficazmente a los dendrímeros seleccionados. En

todos los casos, los dendrímeros que forman estos nanoconjugados con mayor facilidad son **47** y **48**. Por último, el estudio realizado mediante dicroísmo circular, permite comprobar que la interacción de estos dendrímeros con P24 no altera la estructura secundaria del péptido, de forma que no modificarían su función si se utilizasen como componentes de nanovacunas.

XIII. Los estudios de biocompatibilidad y de retención del ARNpi específico para el VIH, siNEF, con los dendrímeros y dendrones catiónicos mostraron que los dendrímeros $G_nO_3(S-NMe_3^+)_m$ (**46-49**) eran los más adecuados para utilizarse en terapia génica contra el VIH, ya que presentaban toxicidades bajas frente a las líneas celulares estudiadas y eran capaces de formar nanoconjugados. Sin embargo, estos nanoconjugados tan sólo reducen moderadamente la infección por el VIH.

XIV. La biodistribución *in vivo* del compuesto $G_2O_3(NMeFITC)(S-NMe_3^+)_{11}$ (**67**) muestra tiempos de circulación elevados ya que dicho compuesto puede encontrarse en bazo. Además, la presencia de dicho compuesto en cerebro muestra que su lipofilia le permite cruzar la barrera hematoencefálica, lo que podría permitir su empleo para tratar enfermedades de tipo neurológico o incluso el VIH, al ser el cerebro uno de los reservorios más importantes de este virus.

XV. Por otra parte, la biodistribución del nanoconjugado siNEF/**67**, muestra un aumento de la fluorescencia, en bazo e hígado, disminuyendo la cantidad de dendrímero y ARNpi que llega a riñón y nódulos linfáticos. Esto podría estar relacionado, de nuevo, con mayores tiempos de circulación probablemente debido al mayor tamaño del nanoconjugado con respecto al dendrímero.

XVI. De la familia $G_nO_3(S-NMe_3^+)_m$ (**46-49**), el nanoconjugado con pIC (un ARNdc sintético con capacidad proapoptótica frente al cáncer de melanoma) que presenta mayor actividad *in vitro* es el del derivado de cuarta generación **49**. Asimismo, la formación del nanoconjugado entre $G_4O_3(S-NMe_3^+)_{48}$ (**49**) y pIC reduce en ratones significativamente la metástasis en pulmón de cáncer de melanoma, por lo que se presenta como una nueva aproximación terapéutica para el tratamiento de esta enfermedad.

XVII. Los dendrones carbosilano sintetizados en este trabajo son adecuados para llevar a cabo la dendronización de diferentes nanopartículas de sílice mesoporosa y poliméricas. Estas nanopartículas dendronizadas han mostrado una gran capacidad para la transfección de ácidos nucleicos, lo que abre la puerta a su posible utilización como agentes transfectantes de ácidos nucleicos o como agentes transportadores de fármacos.

Capítulo 6

Summary and conclusions

6.1 Introduction

Dendritic structures are highly branched monodisperse macromolecules and due to their characteristics, especially due to their multivalency, they have been used in different fields such as biomedicine, materials science and catalysis.¹ The first dendritic molecules were reported by Vögtle in 1978² and since then many dendritic structures have been synthesized containing a variety of scaffolds such as poly(amidoamine),³ poly(propylene imine),⁴ arene,⁵ benzyl ether,⁶ or dendrimers containing phosphorous⁷ or silicon⁸ atoms, among others.

The multivalency joined to the monodispersity of dendritic molecules, in contrast to polymers, is advantageous for their use in biomedicine.⁹ The application of these compounds mainly depends on the dendritic periphery. From this point of view, cationic dendritic molecules, such as those containing ammonium moieties, can be used in gene therapy¹⁰ or as antibacterial agents.¹¹ On the other hand, anionic dendritic molecules can be used as therapeutic agents against a variety of diseases such as HIV.¹² Other applications are associated to the transport of other molecules¹³ or imaging.¹⁴

Several synthetic strategies have been employed in order to introduce cationic groups in the periphery of carbosilane dendritic molecules. However, these strategies usually require either a lengthening of the synthetic procedure or the use of moisture sensitive reactants.¹⁵ For this reason, the search for a methodology to functionalize from the alkenyl groups present in the dendritic precursors can be preferable. From this point of view, thiol-ene addition can be a good alternative. This reaction is included in the group of reactions known as *click reactions* due to the fact that it proceeds with good yields and stereospecificity, besides of being highly compatible with a great scope of reagents.¹⁶

Also, nosocomial infections have emerged as a problem in the last years due to bacterial resistance to traditional antibiotics. In this sense, the creation of new antibacterial agents that would be based in new mechanisms based on

avoiding the apparition of resistant strains is important. Quaternary ammonium salts possess a broad-spectrum antibacterial activity¹¹ that is increased when they form part of cationic polymers. Cationic dendritic structures also have good antibacterial activities while having some advantages over polymers as low polydispersity and the possibility of performing structure-activity relationship studies.¹⁷ Besides, it has been previously reported that PAMAM dendrimers do not induce resistances in bacterial strains.¹⁸

On the other hand, cationic dendritic systems can also be useful in the transport of other molecules such as drugs,^{13a; 19} peptides^{13b; 20} or nucleic acids, especially in the treatment of cancer or HIV.²¹

Our research group has a long experience in the synthesis of water soluble carbosilane dendritic systems which can be used in different fields of nanomedicine.^{15; 22} In this work the preparation of homo- and hetero-functionalized dendritic macromolecules with different topologies, through either click chemistry or hydrosilylation, is described. All the compounds synthesized in this work have been characterized by several techniques such as NMR spectroscopy, elemental analysis, mass spectrometry, UV-Vis or FTIR depending on their structure. These new systems have been evaluated for their use as microbicides or as carriers of peptides or nucleic acids.

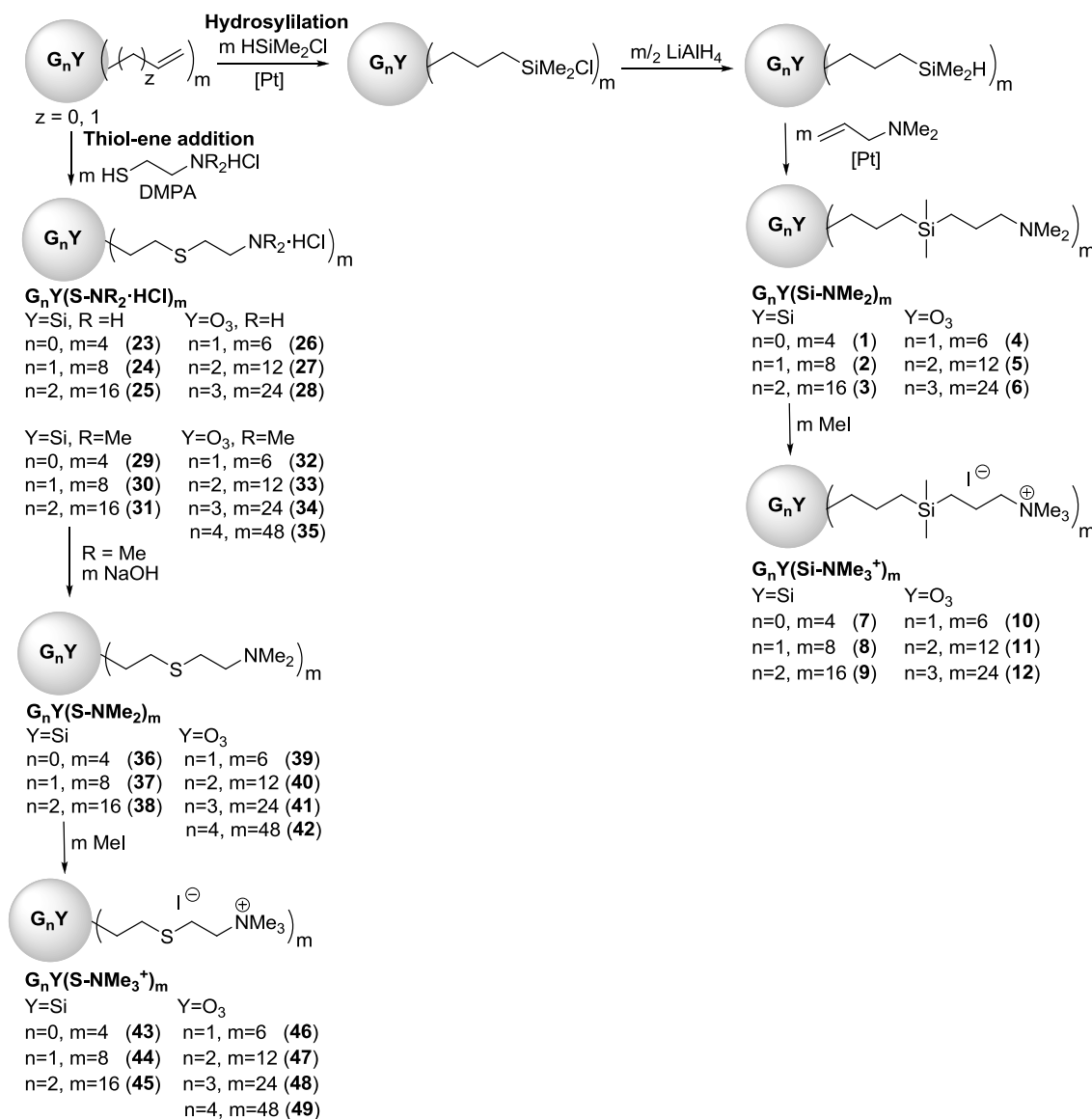
6.2 Results and discussion

6.2.1 Synthesis of homofunctionalized cationic dendrimers

In order to obtain homofunctionalized dendrimers with ammonium groups in their periphery, hydrosilylation and thiol-ene addition have been employed (Scheme 6.1).

Dendrimers functionalized via hydrosilylation, $G_n Y(\text{Si-NMe}_3^+)_m$ (**7-12**), were obtained from Si-H terminated carbosilane dendrimers with silicon or 1,3,5-trihydroxibenzene core, which have been described elsewhere.²³ These dendrimers have been treated with N,N-dimethylallylamine in presence of

Karstedt catalyst (Scheme 6.1) to give amine terminated dendrimers $G_nY(\text{Si-NMe}_2)_m$ (**1-6**). Afterwards, treatment of compounds **1-6** with MeI afforded water soluble compounds $G_nY(\text{Si-NMe}_3^+)_m$ (**7-12**), a necessity for the desired applications.



Scheme 6.1 Synthesis of cationic dendrimers $G_nY(\text{Si-NMe}_3^+)_m$ (**7-12**) through hydrosilylation and $G_nY(\text{S-NMe}_3^+)_m$ (**43-49**) through thiol-ene addition.

Using a different synthetic approach (Scheme 6.1), analogous ammonium-terminated dendrimers functionalized via thiol-ene addition, $G_nY(\text{S-NH}_3^+)_m$ (**23-28**) and $G_nY(\text{S-NMe}_3^+)_m$ (**43-49**) were obtained from vinyl terminated carbosilane dendrimers. Vinyl terminated dendrimers have been treated with

either cysteamine hydrochloride or 2-(dimethylamino)ethanethiol hydrochloride in the presence of a photoinitiator 2,2-Dimethoxy-2-phenylacetophenone (DMPA) under irradiation with UV lamp with $\lambda_{\text{max}} = 365$ nm to obtain the compounds $G_nY(S-NR_2\cdot HCl)_m$ ($R = H$, **23-28**; $R = Me$, **29-35**). Compounds **29-35** were afterwards basificated to obtain the neutral compounds, $G_nY(S-NMe_2)_m$ (**36-42**), soluble in organic solvents, and subsequently methylated to obtain the cationic dendrimers $G_nY(S-NMe_3^+)_m$ (**43-49**). The reason to change the cationic group $-NMe_2\cdot HCl$ for the group $-NMe_3^+$ is that while the former can be deprotonated leading to non water soluble compounds, the latter does not present an acid behavior, that can be beneficial in certain cases. Also, this new family of carbosilane dendrimers will also allow to explore the influence of the sulfur atom close to the ammonium groups in the activity of these compounds.

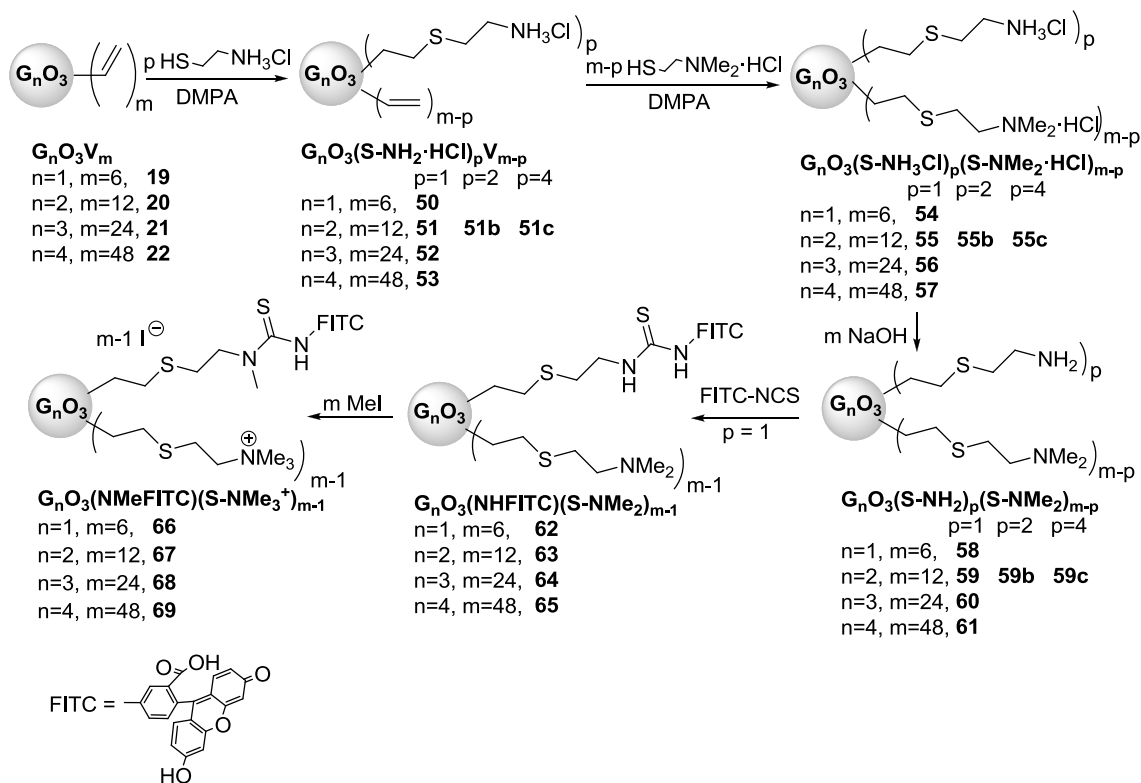
6.2.2 Synthesis of heterofunctionalized cationic dendrimers

In this work, a second function has been introduced in the periphery of cationic dendrimers: a fluorophore (fluoresceine) or an anti-inflammatory drug (ibuprofen). The former would allow carrying out *in vivo* biodistribution studies as well as cellular internalization studies,²⁴ while the latter may allow a combined action between the activity of cationic dendrimers and this drug.²⁵

Thiol-ene addition is a very versatile reaction, highly compatible with a wide scope of reactants. For these reasons, this way of functionalization was chosen in order to obtain heterofunctionalized dendrimers. Sequential addition of different thiol derivatives to vinyl terminated dendrimers, in a similar way to that described for homofunctionalized dendrimers, has provided cationic compounds with available functional groups that can covalently bind to other molecules of biomedical interest.

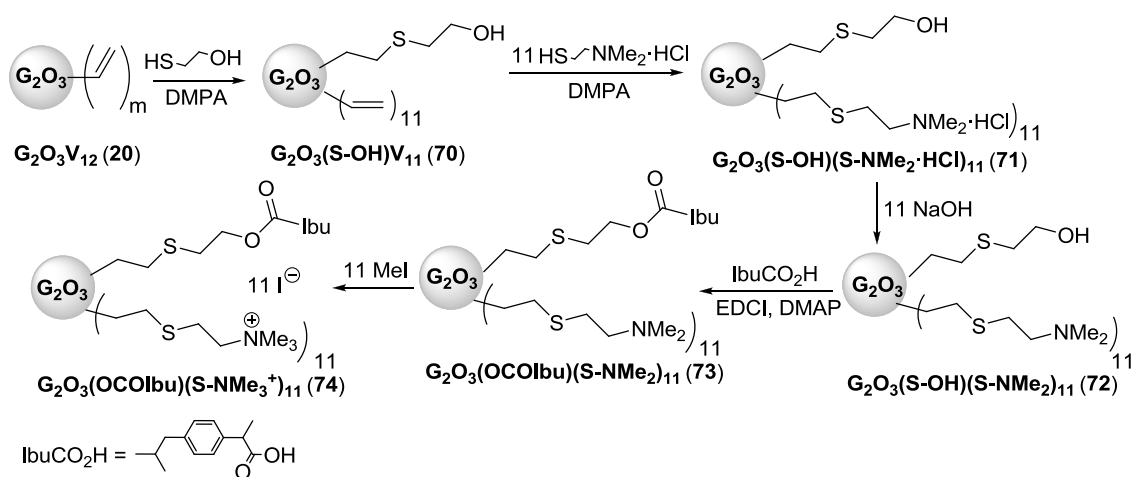
In the case of fluorescein, dendrimers with a polyphenolic core were chosen for this study due to the properties as carriers of nucleic acids of the analogous homofunctionalized compounds, $G_nO_3(S-NMe_3^+)_m$ (**46-49**). Thus, carbosilane dendrimers with $-NMe_2$ groups in their periphery and one $-NH_2$

group have been prepared. Then the $-\text{NH}_2$ group of these compounds reacted with fluorescein isothiocyanate and subsequent quaternization provided with statistically labeled dendrimers $\text{G}_n\text{O}_3(\text{NMeFITC})(\text{S-NMe}_3^+)_{m-1}$ (**66-69**).



Scheme 6.2 Synthesis of dendrimers labeled with fluorescein $\text{G}_n\text{O}_3(\text{NMeFITC})(\text{S-NMe}_3^+)_{m-1}$ (**66-69**).

Moreover, a second generation dendrimer decorated with ammonium groups and an ibuprofen molecule (Ibu) has been prepared (Scheme 6.3). In this case, the second generation vinyl precursor was treated with one equivalent of mercaptoethanol, then, 2-(dimethylamino)ethanethiol hydrochloride was added to finally obtain the heterofunctionalized compound $\text{G}_2\text{O}_3(\text{S-OH})(\text{S-NMe}_2)_{11}$ (**72**) with a free $-\text{OH}$ group. Afterwards, esterification with ibuprofen in the presence of a coupling agent (EDCI) and a base (DMAP) was performed prior to quaternization of the $-\text{NMe}_2$ groups to obtain compound $\text{G}_2\text{O}_3(\text{OCOIbu})(\text{S-NMe}_3^+)_{11}$ (**74**).

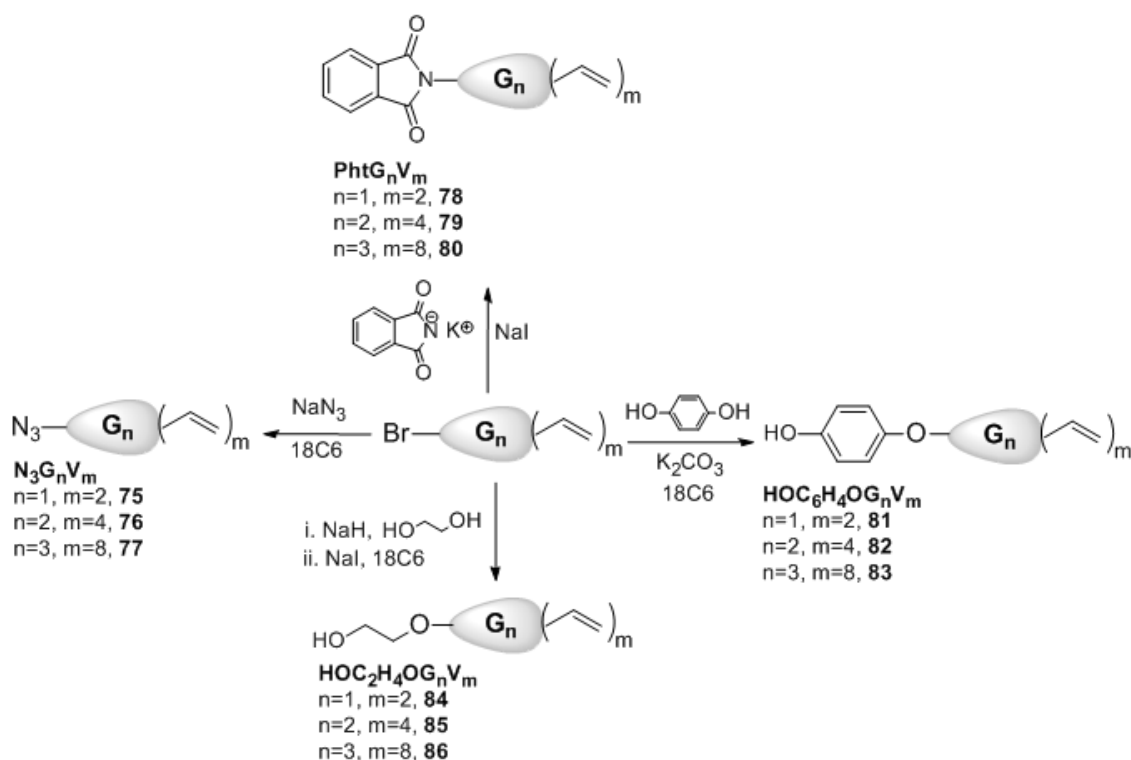


6.2.3 Synthesis of dendrons with different focal points

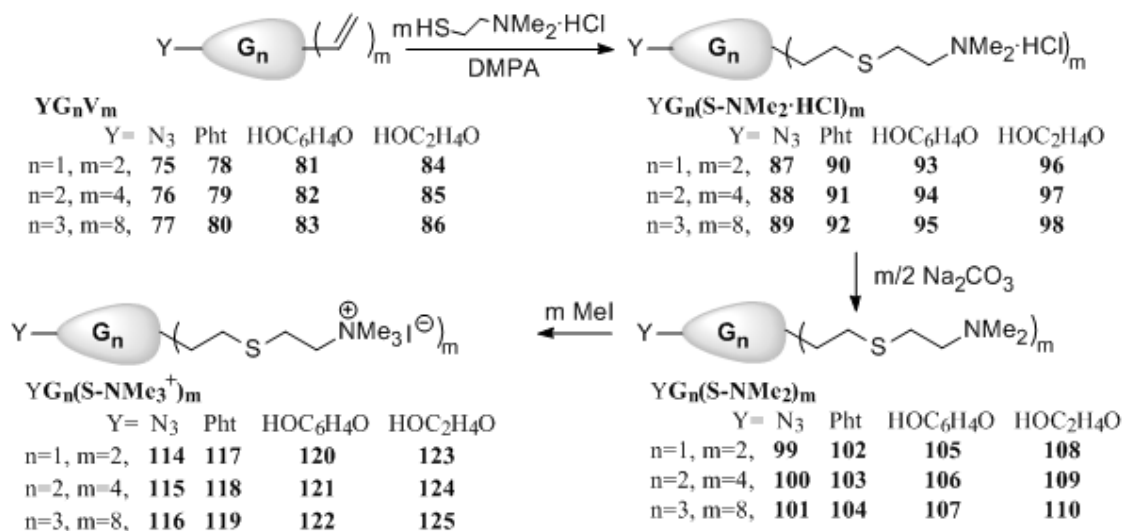
Dendrons are dendritic systems which exhibit similar properties to that of dendrimers. The main difference between both kind of compounds is their topology, as dendrons possess a reactive group, clearly differentiated from dendritic periphery, which is known as focal point.²⁶

The introduction of different chemical groups (phthalimide, as a precursor of primary amines, azide, phenol and alcohol) in the focal point of carbosilane vinyl terminated dendrons with a bromide atom in the focal point was achieved through chemical modification by nucleophilic substitution of the focal point (Scheme. 6.4). These groups were chosen due to their synthetic versatility that would allow their use in the obtaining of more complicated structures.

Once the focal point was introduced, vinyl fragments have been used to introduce amine (**99-110**) and ammonium (**114-125**) groups by means of thiolene addition (Scheme 6.5). The former are soluble in organic solvents while the latter are soluble in water. These differences in the solubility of these compounds will influence their future reactivity that may allow the introduction of other fragments at the focal point or their use in obtaining hybrid materials.

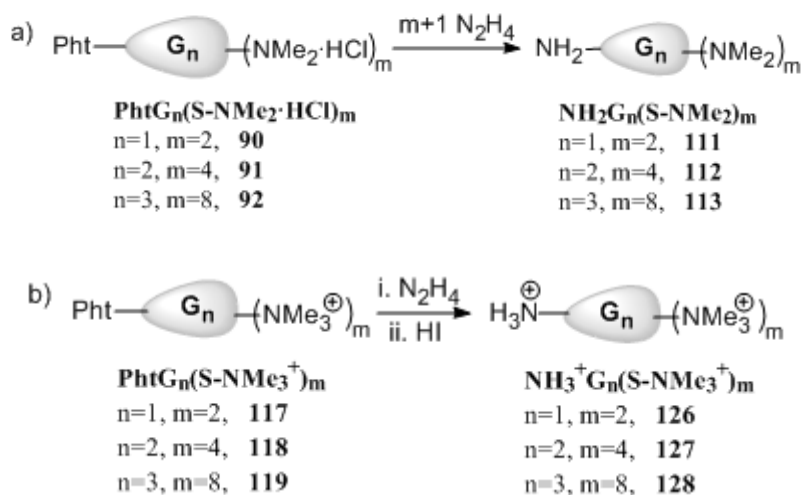


Scheme 6.4 Synthesis of vinyl terminated dendrons with different focal points.



Scheme 6.5 Synthesis of amine (**99-110**) and ammonium (**114-125**) terminated dendrons with different focal points.

The phthalimide group is a precursor of primary amines,²⁷ from this point of view, analogous dendrimers with an –NH₂ group at the focal point and –NMe₂ or –NMe₃⁺ groups can be obtained by deprotection of this group with hydrazine from PhtG_n(S-NMe₂·HCl)_m (**90-92**) or PhtG_n(S-NMe₃⁺)_m (**117-119**), respectively, as shown in Scheme 6.6.



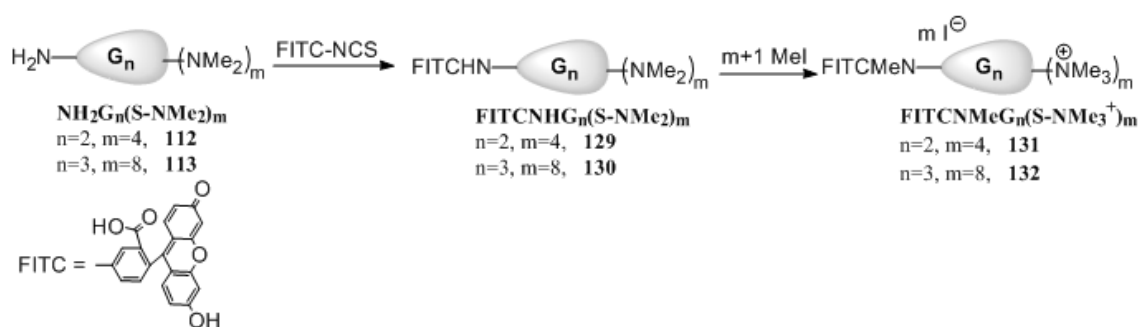
Scheme 6.6 Synthesis of dendrons with a primary amine group at the focal point with peripheral a) $-\text{NMe}_2$ or b) $-\text{NMe}_3^+$.

6.2.4 Synthesis of dendrons with fragments of biological interest as a focal point

As described above for dendrimers, some molecules have been introduced in the focal point of cationic dendrons: a fluorophore (fluorescein isothiocyanate), an anti-inflammatory drug (ibuprofen) and an antibiotic (penicillin). As previously described, the first would allow carrying out *in vivo* biodistribution studies as well as cellular internalization studies,²⁴ while both ibuprofen and penicillin may allow a combined action between the activity of cationic dendrimers and these drugs.^{25; 28} In all these compounds, the use of DOSY-2D experiments corroborated the linkage of both the dendron and the new fragment.

Fluorescein was introduced in dendrons following a similar procedure to that described for dendrimers. In this case, second and third generation dendrons were chosen due to the presence of an adequate number of positive charges in order to use these compounds as transfecting agents, while being able to carry out further biodistribution studies (section 6.2.11). Hence, $\text{NH}_2\text{G}_n(\text{S-NMe}_2)_m$ (**112-113**) reacted with fluorescein isothiocyanate. Afterwards, intermediates $\text{FITCNHG}_n(\text{S-NMe}_2)_m$ (**129-130**) were treated with MeI to obtain the final cationic products $\text{FITCNMeG}_n(\text{S-NMe}_3^+)_m$ (**131-132**, Scheme 6.7) as precisely

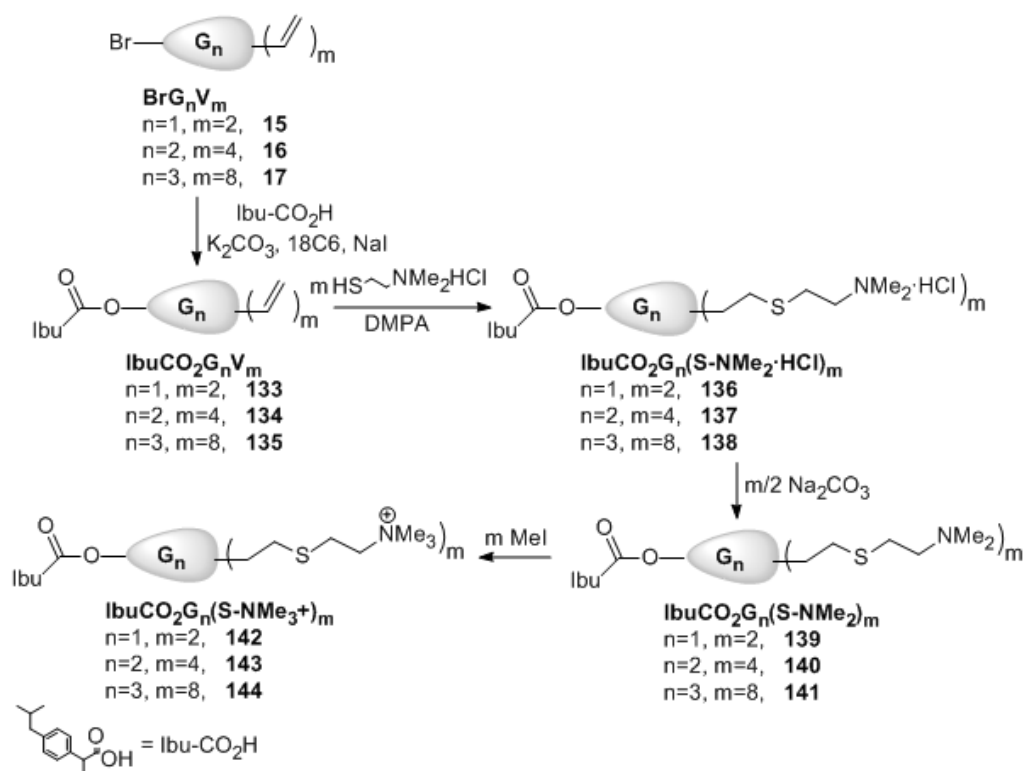
heterofunctionalized derivatives. These compounds were characterized using NMR, UV-Vis, IR spectroscopy, mass spectrometry and elemental analysis.



Scheme 6.7 Synthesis of dendrons with fluorescein at the focal point.

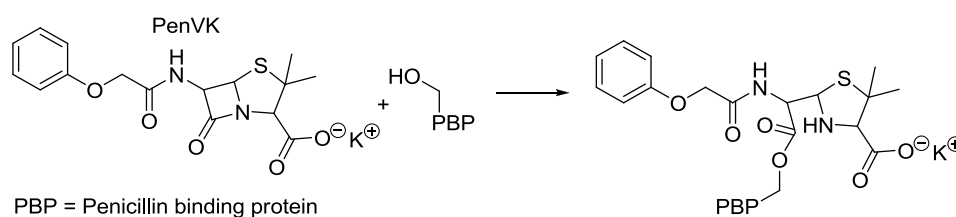
As in the case of dendrimers, dendrons with an ibuprofen molecule (Ibu) at the focal point have been prepared. In this case, in order to avoid the use of coupling agents that should be eliminated later, the reaction was performed from BrG_nV_m (**15-17**) by nucleophilic substitution of the bromide atom. Thus, reaction of these dendrons with ibuprofen, under basic conditions, led to dendrons containing an ibuprofen fragment at their focal point bonded through an ester bond $\text{IbuCO}_2\text{G}_n\text{V}_m$ (**133-135**, Scheme 6.8). Afterwards, dendrons **133-135** were modified, to obtain dendrons with ammonium groups and an ibuprofen moiety, by hydrothiolation with $\text{HSCH}_2\text{CH}_2\text{NMe}_2\cdot\text{HCl}$, neutralization with Na_2CO_3 and alkylation with MeI. With this procedure, dendritic molecules heterofunctionalized in a controlled way, were obtained.

Furthermore, in this case HPLC studies were performed in order to verify the possibility of releasing the ibuprofen fragment in the presence of enzymes. Addition of esterases favoured the release of the ibuprofen molecule, what would allow the use of compounds $\text{IbuCO}_2\text{G}_n(\text{S-NMe}_3^+)_m$ (**142-144**) in order to get combined actions of the dendritic part and the ibuprofen.



Scheme 6.8 Synthesis of dendrons with ibuprofen at the focal point.

Finally, an antibiotic was introduced at the focal point of dendrimers in order to combine its antibacterial activity with that of dendrimers. Penicillin poses a β -lactam ring in its structure that is essential for its activity (Scheme 6.9),²⁸ but makes this antibiotic sensitive to nucleophiles such as alcohols, amines or thiols.²⁹



Scheme 6.9 Reactivity of penicillin with proteins.

The presence of the carboxylic moiety in penicillin makes it attractive to generate an ester bond by nucleophilic attack to a C-halogen bond. However, as penicillin is sensitive to amine groups, the dendron has to be functionalized with $-\text{NMe}_3^+$ groups before the introduction of penicillin. Finally, the focal point chosen contains a C-Cl bond instead of a C-Br bond, due to the clearly higher

stability of the C-Cl bond in the presence of amines, which are present in the dendritic precursors. For these reasons, dendron $\text{ClG}_2(\text{S-NMe}_3^+)_4$ (**160**, Figure 6.1 left), was prepared.

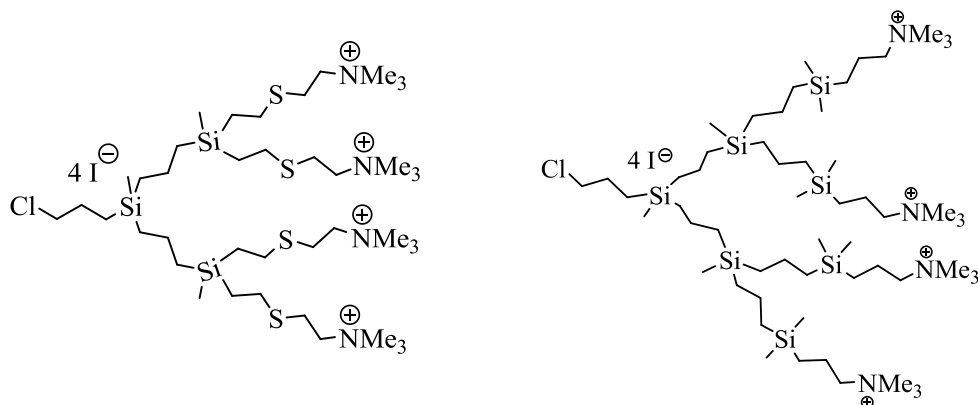
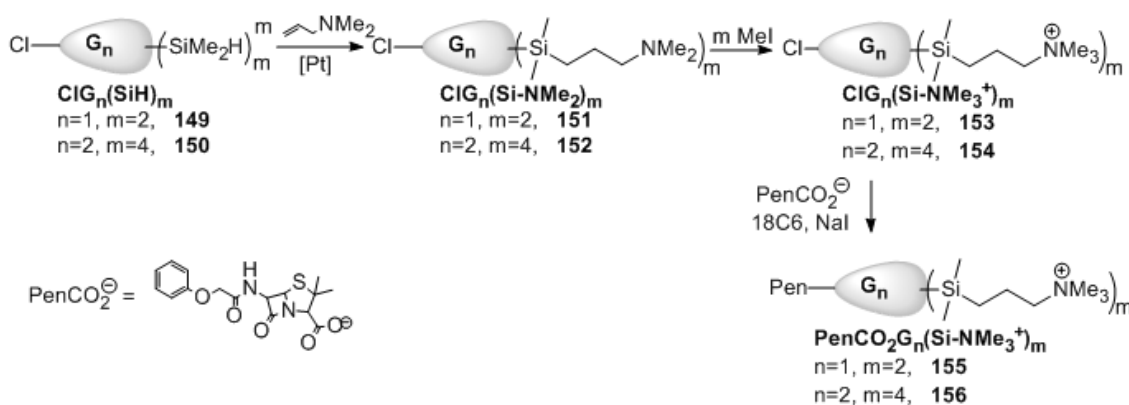


Figure 6.1 Structures of $\text{ClG}_2(\text{S-NMe}_3^+)_4$ (**160**, left) and $\text{ClG}_2(\text{Si-NMe}_3^+)_4$ (**154**, right).

Unfortunately, the use of $\text{ClG}_2(\text{S-NMe}_3^+)_m$ (**160**) in contact with penicillin produced the breakage of the β -lactam ring, maybe due to the presence of the thioether groups. In order to avoid this inconvenience, analogous dendrons, $\text{ClG}_n(\text{Si-NMe}_3^+)_m$ (**153-154**), obtained via hydrosilylation, were synthesized (Figure 6.1 right). In this case, the reaction of these dendrons with penicillin was successful and the desired products, $\text{PenG}_n(\text{Si-NMe}_3^+)_m$ (**155-156**), were obtained (Scheme 6.10). The first generation dendron $\text{PenCO}_2\text{G}_1(\text{Si-NMe}_3^+)_2$ (**155**) was not water soluble in contrast to $\text{PenCO}_2\text{G}_2(\text{Si-NMe}_3^+)_4$ (**156**).



Scheme 6.10 Synthesis of dendrons with penicillin at the focal point.

6.2.5 Dendrimers as templating agents

Hybrid nanoparticle-dendrimer materials were synthesized from homofunctionalized dendrimers. This work was performed during a stay in the group of Dr. Amir Fahmi from Rhine-Waal University (Kleve, Germany).

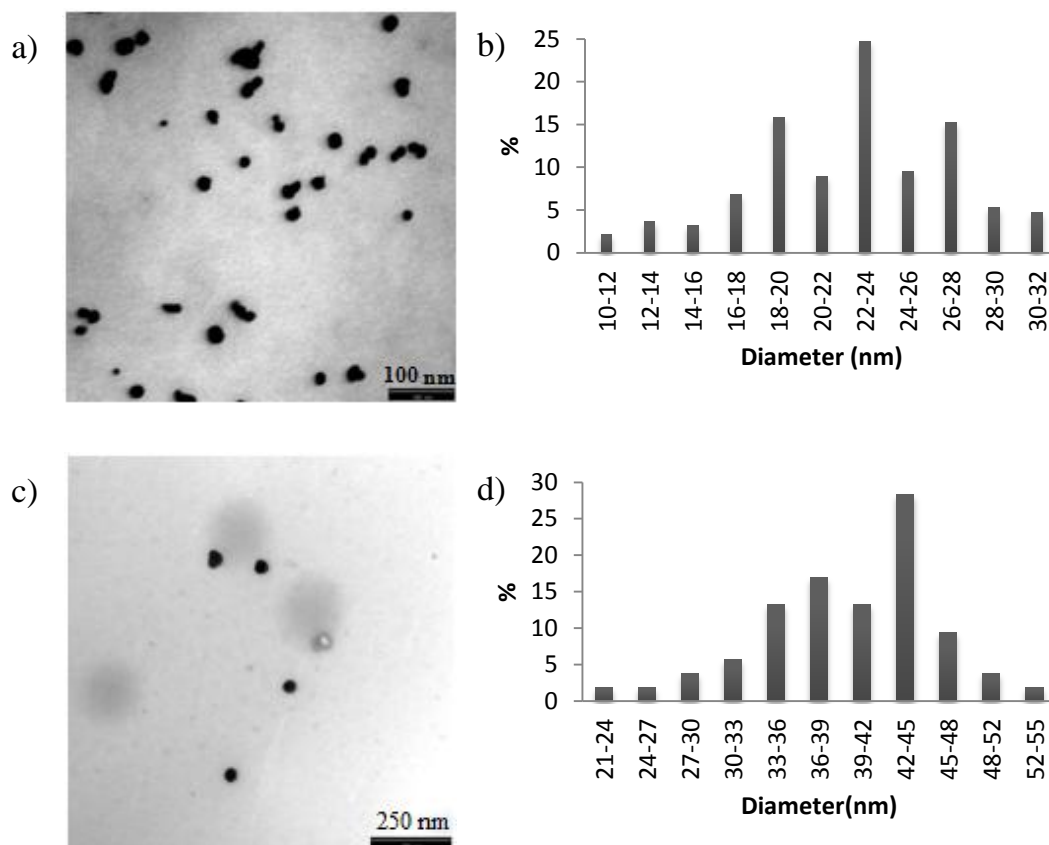


Figure 6.2 a) TEM and b) size distribution of gold nanoparticles stabilized by $G_2O_3(S-NH_2)_{12}$ (**AuNP-27n**) and c) TEM and d) size distribution of gold nanoparticles stabilized by $G_3O_3(S-NH_2)_{24}$ (**AuNP-28n**).

Dendrimers $G_nO_3(S-NH_2)_m$ ($n = 2, 3$; $m = 12, 24$; **27n-28n**) produced the reduction of $HAuCl_4$ allowing to obtain stable gold nanoparticles (**AuNP-27n** and **AuNP-28n**) in absence of reducing agent. The reduction and template of gold nanoparticles might be mediated by the presence of the $-NH_2$ terminal groups, as previously reported for similar compounds.³⁰ This would explain the shorter reaction times found for third generation compound. In the presence of hydrazine as a reducing agent, the same nanoparticles are obtained after reduced times. The size of these nanoparticles was measured using TEM (Figure 6.2). Nanoparticles template by second generation dendrimer **27n** were approximately

of 22 nm, while those obtained from **28n** were approximately of 40 nm. The same procedure performed with $G_nO_3(S-NMe_3^+)_m$ ($n = 2, 3$; $m = 12, 24$; **47-48**) or $G_nO_3(S-NMe_2)_m$ ($n = 2, 3$; $m = 12, 24$; **40-41**) was not effective to either reduce or template gold, proving that the $-NH_2$ groups play a key role in both, the reduction and the stabilizing process.

6.2.6 Hybrid materials from dendritic systems

Some of the dendrons prepared through this research have been used to generate different hybrid materials. The synthesis of these systems has been carried out either in our group, or in other research groups with which our research group keep collaborative projects.

Dendrons with a $-NH_2$ (**111-113** and **127-128**) or a phenol (**105**) moiety at the focal point have been used for dendronization, in order to obtain new hybrid systems.

First of all, in collaboration with Dr. Dietmar Appelhans from Leibniz-Institut für Polymerforschung (Dresden, Germany), PPI dendrimers have been combined with cationic dendrons in order to be used as antigenic transporters (Figure 6.3).

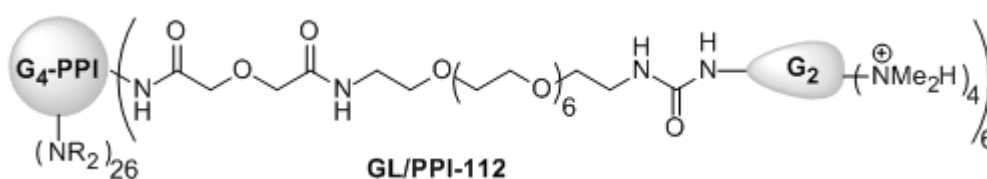


Figure 6.3 Structure of hybrid carbosilane-glycodendrimers.

Also, in collaboration with Dr. Jean Pierre Majoral, from the CNRS (Centre National de la Recherche Scientifique, Toulouse, France), phosphorus containing dendrimers have been combined with carbosilane cationic dendrons in order to be used as antigenic peptides transporters (Figure 6.4).

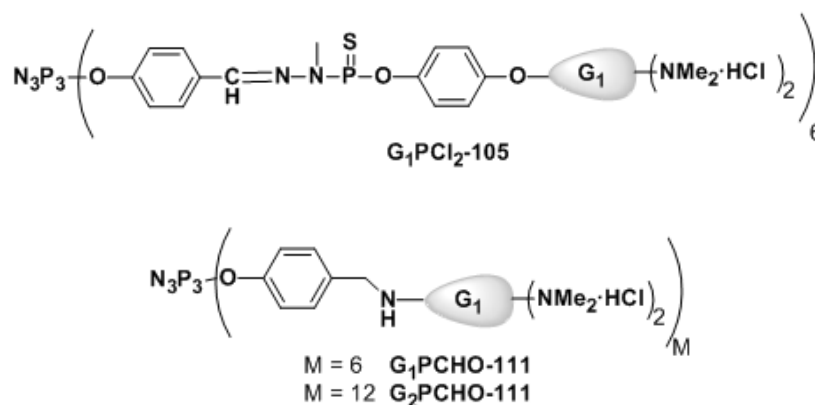


Figure 6.4 Structure of hybrid carboxilane-phosphorus containing dendrimers.

Then, soft nanoparticles derived from poly(lactic-co-glycolic acid) have been dendronized (Figure 6.5). These compounds are intended to be used as nanocarriers in gene therapy against adrenoleukodystrophy. This study has been performed in collaboration with Dr. Conxita Solans from the Institute of Advanced Chemistry of Catalonia (Barcelona, Spain).

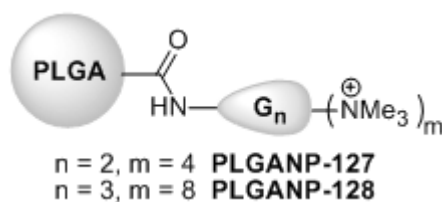


Figure 6.5 Structure of dendronized PLGA nanoparticles.

In collaboration with Dr. María Vallet Regí and Dr. Blanca González Ortiz from Complutense University of Madrid (Madrid, Spain), mesoporous silica nanoparticles have been dendronized (Figure 6.6). These compounds are intended to be used as nanocarriers in gene therapy against HIV, in order to obtain a combined action between the siRNA (siNEF) complexed to the dendrimer, and drugs loaded into the nanoparticle.

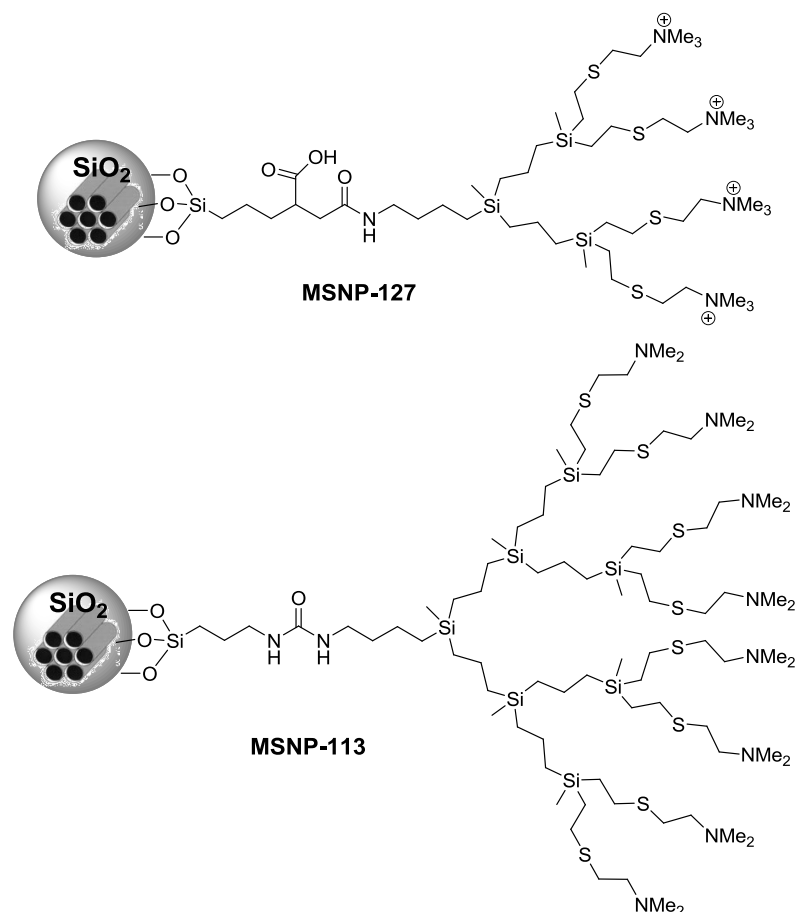


Figure 6.6 Structure of dendronized mesoporous silica nanoparticles.

6.2.7 Microbicidal activity

6.2.7.1 Antibacterial activity

Evaluation of the antibacterial activity of dendrimers $G_n Y(\text{Si-NMe}_3^+)_m$ ($Y = \text{Si}$, **7-9**; $Y = \text{O}_3$, **10-12**), $G_n Y(\text{S-NMe}_3^+)_m$ ($Y = \text{Si}$, **43-45**; $Y = \text{O}_3$, **47-49**), $G_n Y(\text{S-NH}_3^+)_m$ ($Y = \text{Si}$, **23-25**; $Y = \text{O}_3$, **26-28**) as well as dendrons $\text{HOC}_6\text{H}_4\text{OG}_n(\text{S-NMe}_3^+)_m$ (**120-122**), $\text{YG}_2(\text{S-NMe}_3^+)_4$ ($Y = \text{N}_3$, **115**; $Y = \text{HOC}_2\text{H}_4\text{O}$, **124**; $Y = \text{NH}_3^+$, **127**) and $\text{YG}_2(\text{Si-NMe}_3^+)_4$ ($Y = \text{Cl}$, **154**; $Y = \text{PenCO}_2$, **156**) has been tested in *S. aureus* (gram positive) and *E. coli* (gram negative) bacteria. The structures of these compounds can be found on the compound index. These studies have been performed in the Department of Biomedicine and Biotechnology from the University of Alcalá in collaboration

with Dr. José Manuel Hernández Ros, Dr. Juan Soliveri de Carranza and Dr. José Luis Copa Patiño.

The studies showed that these compounds behave as broad spectrum antibacterial agents, being slightly more active against *S. aureus* (Table 6.1). Furthermore the most active generation is usually the lowest one for dendrimers and the second one for dendrons. Moreover, compounds with $-\text{NMe}_3^+$ groups showed to have an antibacterial activity that hardly depended on pH or temperature, although compounds functionalized via thiol-ene addition showed a decrease of their antibacterial activity when they are simultaneously treated with high pH and high temperature, probably due to Hofmann's elimination.

	H ₂ O		MBC <i>E. coli</i>		MBC <i>S. aureus</i>	
	ppm	μM [NR ₃ ⁺]	ppm	μM [NR ₃ ⁺]	ppm	μM [NR ₃ ⁺]
G ₀ Si(Si-NMe ₃ ⁺) ₄ (7)	24	71	4	12	4	12
G ₁ O ₃ (Si-NMe ₃ ⁺) ₆ (10)	2	6	32	90	2	6
G ₁ O ₃ (S-NH ₃ ⁺) ₆ (26)	3	13	2	9	2	9
G ₂ O ₃ (S-NH ₃ ⁺) ₁₂ (27)	0.4	1.8	8	37	4	18
G ₁ Si(S-NMe ₃ ⁺) ₈ (44)	1074*	3353*	64	200	128	400
G ₁ O ₃ (S-NMe ₃ ⁺) ₆ (46)	487	1415	4	12	2	6
G ₂ O ₃ (S-NMe ₃ ⁺) ₁₂ (47)	2	6	8	23	2	6
N ₃ G ₂ (S-NMe ₃ ⁺) ₄ (115)	4	10	8	23	8	23
HOC ₆ H ₄ OG ₂ (S-NMe ₃ ⁺) ₄ (121)	184	499	4	11	4	11
HOC ₂ H ₄ OG ₂ (S-NMe ₃ ⁺) ₄ (124)	18	50	8	22	4	11
NH ₃ ⁺ G ₂ (S-NMe ₃ ⁺) ₄ (127)	84	278	8	26	8	21
ClG ₂ (Si-NMe ₃ ⁺) ₄ (154)	3	7	64	160	8	20
PenCO ₂ G ₂ (Si-NMe ₃ ⁺) ₄ (154)	2	4	32	67	16	33

Table 6.1 Comparison of the antibacterial and hemolytic activities of a selection of compounds. Data marked with * were obtained via extrapolation.

One factor that seems to significantly affect the antibacterial activity is the balance between the hydrophobicity (due to the carbosilane framework) and hydrophilicity (due to the ammonium and thioether groups) of the compound.^{11d} Due to this fact, dendrimers with a silicon atom as a core, $G_n\text{SiX}_m$, possess the best antibacterial behaviour when they are obtained via hydrosilylation, compared to thiol-ene addition, due to the small size of the carbosilane scaffold in this case. On the contrary, dendrimers with a polyphenoxo moiety as a core, $G_n\text{O}_3\text{X}_m$, possess the best antibacterial activity when they are obtained via thiol-ene addition. In this case, the carbosilane framework has a bigger size, and so, there is a bigger hydrophobic part. For this reason, the introduction of polar thioether groups in the structure produces an improvement on the antibacterial behaviour.

A similar effect is found when we analyze the antibacterial activity in dendrons. In this case, second generation dendrons obtained via thiol-ene addition, $\text{YG}_2(\text{S-NMe}_3^+)_4$, are much more active than those obtained via hydrosilylation, $\text{YG}_2(\text{Si-NMe}_3^+)_4$, with minimum differences depending on the focal point. This fact is showy considering that they possess the same number of ammonium groups as dendrons with a silicon atom as a core, $G_n\text{SiX}_m$, which turned out to be more active when obtained via hydrosilylation. The reason for this might be a bigger exposure of the carbosilane framework in dendrons due to the cone topology of these molecules, compared to the spherical topology of analogous dendrimers.

Finally, the introduction of a penicillin moiety in the focal point of a dendron, $\text{PenCO}_2\text{G}_2(\text{Si-NMe}_3^+)_4$ (**156**) did not modify the activity of the dendron. However, in the presence of esterases (porcine liver esterases) an increase of the antibacterial activity against *S. aureus*, compared to its counterpart $\text{ClG}_2(\text{Si-NMe}_3^+)_4$ (**154**), was observed. Still, the antibacterial activity of penicillin was not reached in this experience, probably due to interaction processes between the antibiotic and the cationic dendron. This assessment was confirmed by DOSY NMR.

Hemolytic activity was measured for selected compounds in order to find the most suitable for the desired application (Table 6.1, Figure 6.7). In this sense, the most appropriate compound will combine a high concentration for hemolysis (high H_{20}) and a low concentration to kill the selected bacteria (low minimal bactericidal concentration, MBC). This study has shown that: i) hemolytic activity increases with generation; ii) those compounds with $-NMe_3^+$ groups are less hemolytic than those with $-NH_3^+$ groups; and iii) the introduction of thioether groups in the dendritic periphery produces and increase in the biocompatibility of these compounds (Figure 6.7). With respect to dendrons, in this case the focal point of the type $-OH$ showed the best values (H_{20}), compared to that obtained for $-NH_2$ or $-N_3$.

Taking into account the previous results, the most adequate compounds to be used as antibacterials are the dendrimer $G_1O_3(S-NMe_3^+)_m$ (**46**) and the dendron $HOC_6H_4OG_2(S-NMe_3^+)_4$ (**121**), as they showed simultaneously a low hemolytic activity and a high antibacterial activity. Due to their preferable behaviour these compounds were selected for further studies.

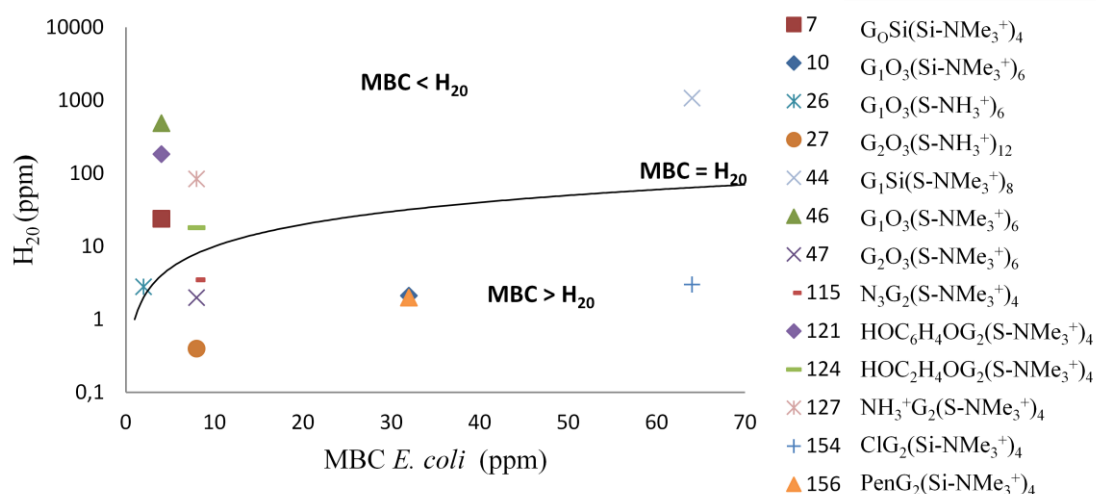


Figure 6.7 Comparison of the concentration which produces a 20 % of hemolysis (H_{20}) and the concentration which produces the death of *E. coli* (MBC). The solid line represents those values for which $MBC = H_{20}$.

Firstly an experiment was performed in order to discover if these compounds are able to induce resistances in the selected bacteria (*E. coli* and *S. aureus*). During this experiment bacteria were submitted to 15 cycles of survival in contact with dendrimers, comparing at the end of the experiment the minimal inhibitory concentration (MIC) for the first (MIC_1) and the last cycle (MIC_{15}). At the end of the experiment, a big increase of the MIC was observed for selected antibiotics, while no or slight increase was obtained with the dendritic structures checked. This result shows that dendrimers behave as good non-resistant antibacterial compounds.

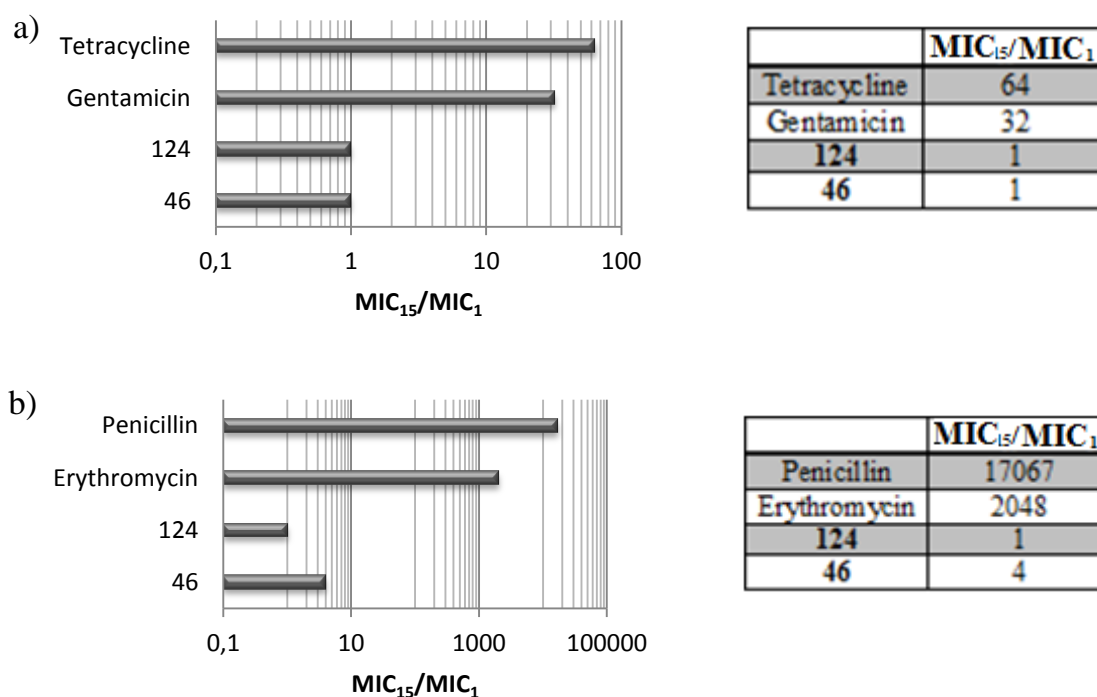


Figure 6.8 MIC_{15}/MIC_1 for a) tetracycline, gentamicin, **121** and **46** against *E. coli* and b) penicillin, erythromycin, **121** and **46** against *S. aureus*.

Finally, the antibacterial activity against antibiotic resistant strains was also evaluated finding insignificant differences in the activity of these compounds with respect to non resistant strains.

6.2.7.2 Microbicidal activity against other agents

Taking into account the promising results obtained for the dendritic compounds against bacteria, we considered to prove their microbicidal activity against other agents such as *Leishmania infantum* (*L. infantum*) and *Acanthamoeba polyphaga* (*A. polyphaga*), as well as their selectivity to several cell lines. In this study, similar tendencies to that found for bacterial strains were obtained in both terms toxicity and activity.

Leishmania protozoa present two morphologies during their life cycle. The amastigote form, which lives in mammal cells, is rounded without flagellum, while the promastigote form, which lives in the insect vector, is elongated and possesses a very long flagellum. The activity of cationic carbosilane dendrimers against *L. infantum* was studied in collaboration with Dr. Rosa Reguera and Dr. Rafael Balaña from the Department of Biomedical Sciences of the University of León (Spain). Dendrimers $G_nO_3(S-NMe_3^+)_m$ (**46-49**) were chosen for this study, finding that the compound with the biggest selectivity (at least 9 times more active than toxic against the amastigote form) was the first generation dendrimer **46**. This compound holds the best activity against both the amastigote and the promastigote forms.

The activity of cationic carbosilane dendrimers against *Acanthamoeba polyphaga* was studied in collaboration with Irene Heredero Bermejo and Dr. Jorge Pérez Serrano from the Department of Biomedicine and Biotechnology of the University of Alcalá (Spain). In this study a variety of dendrimers showed to be significantly active against the trophozoite form, while holding none or slight activity against the cyst form. Those compounds with the best selectivity against the trophozoite form were $G_1Si(S-NMe_3^+)_8$ (**44**) and $G_1O_3(S-NMe_3^+)_6$ (**46**). However, the use of dendrimer **46** might be preferable due to the fact that it requires lower concentrations in order to be active (Table 6.2).

		IC ₅₀ Trophozoite		HeLa	
		ppm	μM [NR ₃ ⁺]	IC ₅₀ (ppm)	TI
G _n Y(Si-NMe ₃ ⁺) _m	7	7.8	24	16.0	2.0
	9	62.0	157	15.9	<0
	11	48.3	118	24.0	<0
	12	45.0	110	33.9	<0
G _n Y(S-NH ₃ ⁺) _m	26	2.4	12	6.2	2.6
	27	19.0	87	8.5	<0
	28	27.5	126	10.4	<0
G _n Y(S-NMe ₃ ⁺) _m	43	430.1	1457	> 512	>1
	44	46.5	144	390.2	8.4
	45	21.7	66	29.2	1.3
	46	16.9	49	69.5	4.1
	47	13.3	38	26.9	2.0
	48	26.9	76	31.2	1.1

Table 6.2 Selectivity towards *A. polyphaga*, compared to HeLa cells of the analyzed dendrimers. TI (therapeutic index) = IC₅₀ HeLa/IC₅₀ trophozoite.

6.2.8 Dendrimers as transfection agents

6.2.8.1 Transfection agents against HIV

The capacity of cationic systems as transfection agents in gene therapy against HIV was studied in collaboration with the group of Dr. M^a Ángeles Muñoz-Fernández from the Laboratory of Immunomolecular Biology of Gregorio Marañón Hospital (Madrid, Spain).

Initially, evaluation of the toxicity in peripheral blood mononuclear cells (PBMCs) and the ability to form dendriplexes with an anti-HIV siRNA, siNEF, of the family of dendrimers G_nO₃X_m (X = Si-NMe₃⁺, **10-12**, X = S-NMe₃⁺, **46-**

49) and dendrons FITCNMeG_n(S-NMe₃⁺)_m (**131-132**) showed that dendrimers of third and fourth generation, **48-49**, possessed a good biocompatibility profile while being able to complex efficiently the desired siRNA. The dendriplexes were able to release siNEF in presence of competition agents, what might suppose that the siRNA would be released in the organism and so, generate the desired effect. Furthermore, dendrimers were less toxic when complexed with the siRNA, probably due to the hiding of the cationic charges.

Finally, an assay was performed in order to test the ability of these compounds to inhibit the HIV infection. In this test it was observed that dendrimers are able to inhibit moderately the HIV infection by themselves, as previously reported for analogous compounds (Figure 6.9).³¹ Besides, complexation with siNEF produced an increase in the activity of dendrimer **49**, while a decrease of the inhibition activity was obtained for the complex siNEF/**48**. The inhibition activities of dendrimer **48** (36 %) and complex siNEF/**49** (35 %) are moderate and similar to that of T20 (31 %).

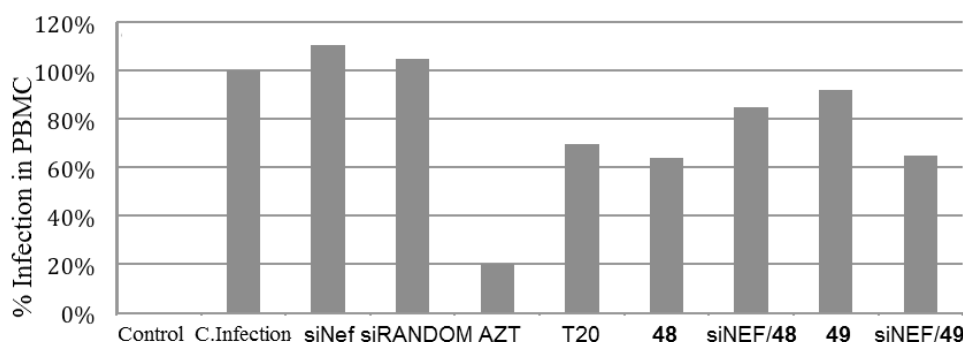


Figure 6.9 Inhibition of P24 antigen by dendriplexes siNEF/**48** and **49**.

6.2.8.2 Transfection agents against melanoma

The possibility of employing carbosilane cationic dendrimers as transfection agents against melanoma, was tested in collaboration with Dr. María Soledad Soengas from the Spanish National Cancer Research Centre (Madrid, Spain).

Taking into account the above exposed results, cationic carbosilane dendrimers might be able to efficiently form dendriplexes and allow a moderate action of the nucleic acid. For the treatment of melanoma a synthetic dsRNA (pIC) was selected. The mechanism of action of this dsRNA is based on its interaction with MDA5 (Melanoma Differentiation-Associated protein 5). Due to their best behaviour in terms of toxicity and complexation with siNEF, dendrimers $G_nO_3(S-NMe_3^+)_m$ (**46-49**) were selected, finding that the best *in vitro* activity (75 %) was obtained for dendrimer $G_4O_3(S-NMe_3^+)_{47}$ (**49**), probably due to its highest size, which allows this compound to form more efficiently the complex with pIC.

Once the *in vitro* activity was tested, this compound was used in an *in vivo* experiment. For this purpose a mouse lung metastatic model was employed finding that the dendriplex pIC/**49** closely produced the disappearance of the lung metastasis after 18 days with a treatment with 100 $\mu\text{g}/\text{kg}$ the days 7, 11, 14 and 18 (Figure 6.10). These results are promising in the use of these compounds against melanoma as complex pIC/**49** had a similar activity to that previously described for the complex with polyethyleneimine, pIC/PEI. Besides, the lower toxicity of dendrimer **49** compared to PEI, allowed its use in a higher dose and thus, obtaining a higher effect.

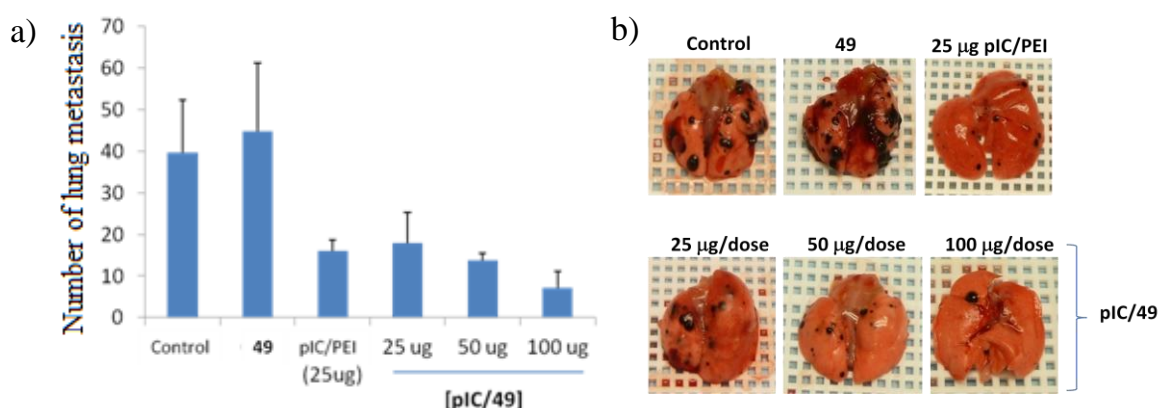


Figure 6.10 a) Number of lung metastasis after the treatment b) Tumor after the treatment.

6.2.9 Dendrimers as non-viral vectors in immunotherapy

An alternative treatment for HIV implies to exploit the body's natural pathways of antigen recognition and processing, recovering the immune function in infected individuals.³² Anionic peptides can be chosen as antigens, although, the major problem of their employment, apart from enzymatic degradation, is the inability of most of peptides to cross cellular membranes because of their anionic charge and thus, the electrostatic repulsion from the negatively charged membrane surface. For this reason, vectors, such as cationic dendrimers, are employed in order to transport these antigens in the body. The possibility of employing cationic carbosilane dendrimers as non-viral vectors of anti-HIV peptides was studied during a stay in the group of Dr. Maria Bryszewska from the University of Łódź (Łódź, Poland)

Herein a preliminary study on complexation of dendrimers $G_nO_3(S-NMe_3^+)_m$ (**46-49**) with three anionic anti-HIV peptides (P24, Gp160 and Nef) is reported. The ability of these compounds to bind the peptides was tested via circular dichroism, fluorescence polarization and zeta potential. These techniques showed that dendrimers **47-48** were able to bind efficiently P24 and Nef at low positive:negative charge ratio ($Q_p:Q_n$, Table 6.3). Besides, the interaction between dendrimers and P24 did not produce conformational changes in the secondary structure of this peptide what avoids a variation of the peptide function.³³

	46		47		48		49	
	$Q_p:Q_n$	p/d	$Q_p:Q_n$	p/d	$Q_p:Q_n$	p/d	$Q_p:Q_n$	p/d
P24	18.0	0.08	5.7	0.53	2.2	2.72	27.6	0.43
Nef	12.6	0.16	9.2	0.43	9.6	0.83	25.6	0.62
Gp160	46.5	0.03	15.6	0.19	10.8	0.56	30.0	0.40

Table 6.3 $Q_p:Q_n$ ratio of dendriplex formation (found via fluorescence polarization) and average number of peptides per dendrimer molecule (p/d), in complexes with compounds $G_nO_3(S-NMe_3^+)_m$ (**46-4**).

This study will be soon completed in the framework of the European project entitled DENPEPTHIV with the testing of the ability of these dendriplexes to produce an immune reaction.

6.2.10 Dendronized materials as non viral vectors

Silica mesoporous nanoparticles dendronized with $\text{NH}_2\text{G}_3(\text{S-NMe}_2)_8$, **MSNP-113**, showed good transfection efficiencies of DNA, as well as a positioning of both **MSNP-113** (labeled in green), and DNA (labeled in red) close to the nuclei. The localization of both, DNA and nanoparticle, close to this organelle, confirms the key role of the nanoparticle in DNA transfection. This nanoparticle is aimed to be used in transfection against HIV as it might be able to load an antilatency and an antiviral drug.

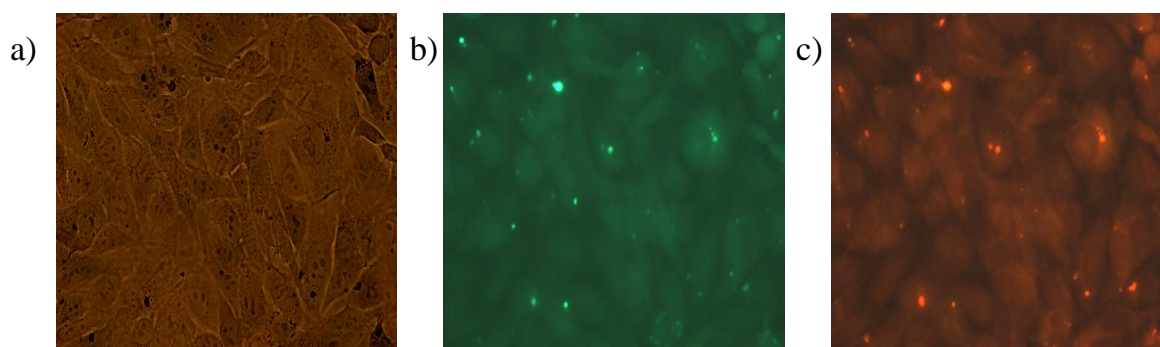


Figure 6.11 a) HOS cells, b) positioning of MSNP-113 and c) DNA, after treatment with MSNP-113/DNA.

Also poly(lactic-co-glycolic) acid (PLGA) nanoparticles were dendronized with $\text{NH}_3^+\text{G}_2(\text{S-NMe}_3^+)_4$. The resulting material, **PLGANP-127**, showed good transfection efficiencies of RNA. In this case, the presence of fetal bovine serum proteins produced a decreased in the transfection efficiency that could be resisted by covering the nanoparticles with polyethylene glycol, in order to protect them from degradation (Figure 6.12). This new material is designed to be used as a transfectant against X-linked adrenoleukodystrophy.

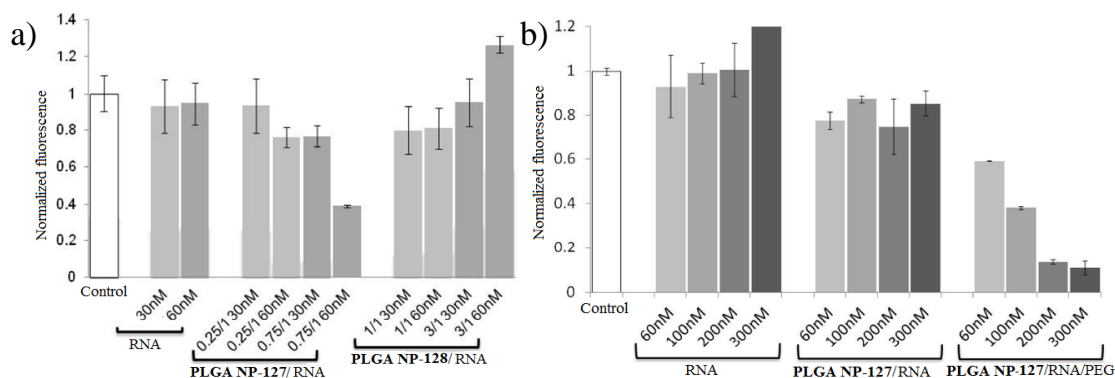


Figure 6.12 Inhibition of luciferase activity produced in a) absence of serum, b) in the presence of 10 % serum.

6.2.11 Biodistribution study of a carboxilane dendrimer

A relevant knowledge in order to use a compound in biomedical applications is the way it distributes in the organism. The evaluation of the biodistribution of the compound $G_2O_3(NMeFITC)(S-NMe_3^+)_{11}$ (**67**) and its dendriplex with siNEF was performed in collaboration with the group of Dr. M^a Ángeles Muñoz-Fernández from the Laboratory of Immunomolecular Biology of Gregorio Marañón Hospital (Madrid, Spain).

This study has shown that this compound is able to distribute in spleen, kidney, liver and brain. The distribution of the dendrimer in spleen reflects relatively long circulation times.³⁴ Besides, the ability of the dendrimer to distribute in brain means that it is able to cross the blood brain barrier, what would benefit its application in the treatment of neurologic diseases as well as HIV, due to the fact that the brain is a reservoir for this virus.

The study of the biodistribution of the dendriplex siNEF/**67** showed an increase in the amount of siNEF delivered to spleen and liver as well as a decrease in the amount delivered to kidney and lymph nodes (Figure 6.13). This fact might be related to the biggest size of the dendriplex, compared to the dendrimer or the siRNA,³⁵ as well as the protection that the dendrimer might exhibit against serum proteins and nucleases.³⁶ The longer circulation times of the dendriplex compared to the siNEF alone would benefit its use in gene therapy

as it would allow the siRNA reaching its target and, thus, accomplish its action at lower doses.

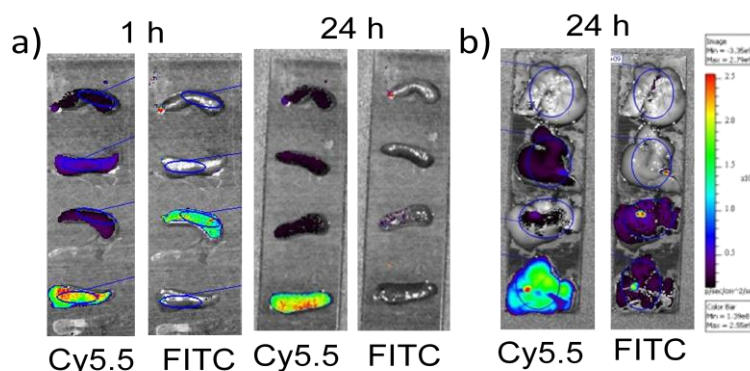


Figure 6.13 Distribution (from top to bottom) in mice injected with nothing, dendrimer **67**, siNEF and siNEF/**67** (15 mg/kg) in a) spleen and b) liver. The blue means the lowest intensity.

6.3 Conclusions

I. Water soluble cationic dendrimers, with $-\text{NMe}_3^+$ groups in their periphery, have been prepared from dendrimers with Si-H groups through hydrosilylation with N-allyl-N,N-dimethylamine, $\text{C}_3\text{H}_5\text{NMe}_2$, and subsequent addition of MeI. These compounds were obtained in good yields and soft reaction conditions, compared to that employed in order to hydrosilylate alkenes with $-\text{NH}_2$ or $-\text{N}(\text{Et})\text{CH}_2\text{CH}_2\text{NMe}_2$ groups.

II. Thiol-ene addition has been shown to be a simpler and more versatile synthetic method than hydrosilylation when used to obtain cationic carbosilane dendrimers. The use of this method allows direct functionalization from the derivatives with vinyl terminal groups, G_nYV_m , without further necessity of modification of the dendritic periphery. Furthermore this reaction proceeds in softer conditions, as well as shorter times, in comparison to hydrosilylation and other synthetic strategies previously used in our research group. Finally, the use of this synthetic strategy allows the comparison of the influence of the thioether moieties close to the peripheral nitrogen in the biomedical assays.

III. The versatility of thiol-ene addition allowed obtaining heterofunctionalized dendrimers through sequential addition of two different thiol derivatives. Hence, cationic groups, which provide with water solubility, as well as antibacterial activity or the possibility of interacting with anionic molecules, and other moieties of biological interest such as a fluorescent label (fluorescein) and an anti-inflammatory drug (ibuprofen), have been introduced in the same dendrimer. These fragments provide with an added value in the applications explored in this work.

IV. Thiol-ene addition allows obtaining cationic carbosilane dendritic wedges with different focal points (azide, ftalimide, primary amine, alcohol or phenol), that can be used as building blocks in order to obtain hybrid materials as well as using different synthetic strategies in order to introduce moieties of biological interest. As an example, dendrons with different moieties of biological interest have been synthesized. These moieties are a fluorescent label (fluorescein), an anti-inflammatory drug (ibuprofen) and an antibiotic (penicillin).

V. The introduction of ibuprofen and penicillin moieties in the focal point of carbosilane dendrons through an ester bond, allows their release after addition of esterases. This would be useful in the use of dendrons as carriers of drugs.

VI. Dendrimers of second and third generation, $G_nO_3(S-NH_2)_m$ (**27n** and **28n**) produce the reduction of $HAuCl_4$, while acting as templating agents for the gold nanoparticles generated. These nanoparticles have a size of approximately 22 nm, when templated by **27n**, and close to 40 nm, when templated by **28n**. The use of hydrazine as a reductor accelerates the formation of these nanoparticles. These reduction or templating effects are not produced in the presence of similar dendritic compounds with $-NMe_2$ o $-NMe_3^+$ groups.

VII. The cationic compounds synthesized show a potent broad spectrum antibacterial activity that seems to be influenced by a balance between they hydrophobicity, due to the carbosilane framework, and the hydrophilicity, due the ammonium and thioether groups. The most active compounds are the first

generation with the polyphenolic core dendrimer, as well as second generation dendrons, when they are obtained via thiol-ene addition. In the case of the silicon atom as a core, the best antibacterial activity is held by the zero generation dendrimer obtained via hydrosilylation. All these derivatives have a minimum bactericidal concentration against *E. coli* and *S. aureus* between 2 and 4 ppm.

VIII. Besides, the antibacterial activity of these compounds is highly stable against pH and temperature when those compounds bear $-\text{NMe}_3^+$ groups, obtaining a slight reduction of the antibacterial activity when compounds obtained via thiol-ene addition are simultaneously submitted to high pH and temperature values, probably due to Hofmann elimination processes, favoured by the presence of the sulfur atom.

IX. The hemolytic activity of the studied compounds increases with generation, due to the major concentration of ammonium groups, being less toxic when they possess $-\text{NMe}_3^+$ groups than when they possess $-\text{NH}_3^+$ groups. Besides, the introduction of thioether groups close to the dendritic periphery has a positive effect on the biocompatibility of these compounds. Dendritic systems $\text{G}_1\text{O}_3(\text{S}-\text{NMe}_3^+)_6$ (**46**) and $\text{HOC}_6\text{H}_4\text{OG}_2(\text{S}-\text{NMe}_3^+)_4$ (**121**) present the best balance between hemolytic and antibacterial activity.

X. Compounds $\text{G}_1\text{O}_3(\text{S}-\text{NMe}_3^+)_6$ (**46**) and $\text{HOC}_6\text{H}_4\text{OG}_2(\text{S}-\text{NMe}_3^+)_4$ (**121**) do not induce resistances in *S. aureus* and *E. coli*, even though a small variation in the activity of compound **46** against *S. aureus* is observed. Finally these compounds showed to be equally active against bacteria which are already resistant to commonly used antibiotics, being good candidates in the treatment of these kinds of infections.

XI. The results obtained with bacteria are comparable to that obtained with other infectious agents (*L. infantum* and *A. polyphaga*), for which dendrimer $\text{G}_1\text{O}_3(\text{S}-\text{NMe}_3^+)_6$ (**46**) presents once again one of the best balances between toxicity and activity. Moreover tendencies observed in means of activity, are similar to that observed in bacteria, what might imply that these compounds follow similar mechanisms of action against these agents. Nevertheless, these compounds do not present a good selectivity towards mammal cells against the

resistant forms of these agents (promastigote and cysts), avoiding the use of these compounds against these strains.

XII. Dendrimers $G_nO_3(S-NMe_3^+)_m$ ($n = 1, 2, 3, 4$ and $m = 6, 12, 24, 48$; **46-49**) are able to form dendriplexes with anti-HIV anionic peptides derived from Gp160, P24 and Nef, even though interactions with P24 and Nef require a lower positive charge:negative charge ratio. In any case, the dendrimers which form more easily dendriplexes are **47** and **48** as they require lower ratios to bind efficiently the used peptides. Finally, the study performed via circular dichroism allows to check that the interactions between dendrimers **46-49** and P24 does not alter the secondary structure of this peptide, what implies that these compounds will not alter its function when used as components of vaccines.

XIII. Biocompatibility and siRNA retention studies with siNEF, showed that dendrimers $G_nO_3(S-NMe_3^+)_m$ (**46-49**) were the most adequate to be used in this kind of gene therapy against HIV, as they presented low toxicity against the studied cell lines and they were able to form stable conjugates. However, their dendriplexes are just able to reduce HIV infection moderately.

XIV. The *in vivo* biodistribution study of compound $G_2O_3(NMeFITC)(S-NMe_3^+)_{11}$ (**67**) shows long circulation times as this compound can be found in spleen. Furthermore, the presence of this dendrimer in brain shows that its lipophilicity might allow the crossing of the blood brain barrier. This might allow its use in the treatment of neurological diseases as well as HIV, as the brain is one of the most important reservoirs for this virus.

XV. The biodistribution study of dendriplex siNEF/**67**, shows an increase of fluorescence in spleen and liver, diminishing the amount of dendrimer and siRNA able to reach kidney or lymph nodes, compared to dendrimer or siRNA. This might be related to higher circulation times, probably due to the higher size of dendriplex compared to the dendrimer alone.

XVI. Among the compounds $G_nO_3(S-NMe_3^+)_m$ (**46-49**), dendriplex between pIC (a synthetic proapoptotic dsRNA) and dendrimer $G_4O_3(S-NMe_3^+)_{48}$ (**49**) is the most active *in vitro*. Besides, this dendriplex reduces significantly

lung metastasis of melanoma in mice, being an alternative therapy in order to treat this disease.

XVII. Carbosilane dendrons synthesized in this work can be used to dendronize mesoporous silica and polymeric nanoparticles. These dendronized nanoparticles have shown a good transfection efficiency of nuclei acids, being promising materials to be used as transfectants or as drugs carriers.

6.4 Bibliography

- [1] a) Caminade, A. M., Turrin, C. O., Laurent, R., Ouali, A., Delavaux-Nicot, B., *Dendrimers: Towards Catalytic, Material and Biomedical Uses*. John Wiley & Sons Ltd.: **2011**; 538; b) Cloninger, M. J., *Curr. Opin. Chem. Biol.* **2002**, 6, 742; c) Bryszewska, M., Klajnert, B., *Curr. Med. Chem.* **2012**, 19, 4895; d) Tomalia, D. A., Dvornic, P. R., *Nature* **1994**, 372, 617; e) Knapen, J. W. J., van der Made, A. W., de Wilde, J. C., van Leeuwen, P. W. N. M., Wijkens, P., Grove, D. M., van Koten, G., *Nature* **1994**, 372, 659; f) Cooper, A. I., Londono, J. D., Wignall, G., McClain, J. B., Samulski, E. T., Lin, J. S., Dobrynin, A., Rubinstein, M., Burke, A. L. C., Fréchet, J. M. J., DeSimone, J. M., *Nature* **1997**, 389, 368.
- [2] Buhleier, E., Wehner, W., Vogtle, F., *Synthesis-Stuttgart* **1978**, 155.
- [3] Tomalia, D. A., Baker, H., Dewald, J., Hall, M., Kallos, G., Martin, S., Roeck, J., Ryder, J., Smith, P., *Polym. J.* **1985**, 17, 117.
- [4] Denkewalter, R. G., Kolc, J., Lukasavage, W. J. US4289872A, **1981**.
- [5] Miller, T. M., Neenan, T. X., *Chem. Mater.* **1990**, 2, 346.
- [6] a) Hawker, C. J., Fréchet, J. M. J., *J. Am. Chem. Soc.* **1990**, 112, 7638; b) Hawker, C. J., Fréchet, J. M. J., *Macromolecules* **1990**, 23, 4726.
- [7] a) Launay, N., Galliot, C., Caminade, A. M., Majoral, J. P., *B. Soc. Chim. Fr.* **1995**, 132, 1149; b) Launay, N., Caminade, A. M., Lahana, R., Majoral, J. P., *Angew. Chem. Int. Ed.* **1994**, 106, 1589.
- [8] a) Schlenk, C., Frey, H., *Chemical Monthly* **1999**, 130, 3; b) Lang, H., Luhmann, B., *Adv. Mater.* **2001**, 13, 1523.
- [9] Klajnert, B., Bryszewska, M., *Acta Biochim. Pol.* **2001**, 48, 199.

- [10] a) Zhou, J., Wu, J., Hafdi, N., Behr, J.-P., Erbacher, P., Peng, L., *Chem. Commun.* **2006**, 2362; b) Kostianen, M. A., Szilvay, G. R., Smith, D. K., Linder, M. B., Ikkala, O., *Angew. Chem., Int. Ed.* **2006**, *45*, 3538.
- [11] a) Chanawanno, K., Chantrapromma, S., Anantapong, T., Kanjana-Opas, A., Fun, H.-K., *Eur. J. Med. Chem.* **2010**, *45*, 4199; b) Murugan, E., Gopinath, P., Shanmugayya, V., Mathivanan, N., *J. Appl. Polym. Sci.* **2010**, *117*, 3673; c) Kenawy, E.-R., Mahmoud, Y. A. G., *Macromol. Biosci.* **2003**, *3*, 107; d) Chen, C. Z., Beck-Tan, N. C., Dhurjati, P., Van Dyk, T. K., LaRossa, R. A., Cooper, S. L., *Biomacromolecules* **2000**, *1*, 473; e) Majumdar, P., Lee, E., Gubbins, N., Stafslie, S. J., Daniels, J., Thomson, C. J., Chisholm, B. J., *Polymer* **2009**, *50*, 1124.
- [12] Bermejo, J. F., Ortega, P., Chonco, L., Eritja, R., Samaniego, R., Müllner, M., de Jesús, E., de la Mata, F. J., Flores, J. C., Gómez, R., Muñoz-Fernández, A., *Chem. Eur. J.* **2007**, *13*, 483.
- [13] a) Schilrreff, P., Cervini, G., Romero, E. L., Morilla, M. J., *Colloid Surface B* **2014**, *122*; b) Ionov, M., Ciepluch, K., Klajnert, B., Slawa, G., Gómez-Ramírez, R., de la Mata, F. J., Muñoz-Fernández, M. Á., Bryszewska, M., *Colloids Surf., B* **2013**, *101*, 236.
- [14] Misselwitz, B., Schmitt-Willich, H., Ebert, W., Frenzel, T., Weinmann, H.-J., *Magn. Reson. Mater. Phys., Biol. Med.* **2001**, *12*, 128.
- [15] a) Ortega, P., Bermejo, J. F., Chonco, L., de Jesús, E., de la Mata, F. J., Fernández, G., Flores, J. C., Gómez, R., Serramía, M. J., Muñoz-Fernández, M. A., *Eur. J. Inorg. Chem.* **2006**, 1388; b) Rasines, B., Hernández-Ros, J. M., de las Cuevas, N., Copa-Patiño, J. L., Soliveri, J., Muñoz-Fernández, M. A., Gómez, R., de la Mata, F. J., *Dalton Trans.* **2009**, 8704; c) Arnáiz, E., Doucedo, L. I., García-Gallego, S., Urbiola, K., Gómez, R., Tros de Ilarduya, C., de la Mata, F. J., *Mol. Pharmaceut.* **2012**, *9*, 433.
- [16] Rissing, C., Son, D. Y., *Organometallics* **2008**, *27*, 5394.
- [17] Weber, N., Ortega, P., Clemente, M. I., Shcharbin, D., Bryszewska, M., de la Mata, F. J., Gómez, R., Muñoz-Fernández, M. A., *J. Control. Release* **2008**, *132*, 55.

- [18] Xue, X., Chen, X., Mao, X., Hou, Z., Zhou, Y., Bai, H., Meng, J., Da, F., Sang, G., Wang, Y., Luo, X., *AAPS J.* **2013**, *15*, 132.
- [19] Milhem, O. M., Myles, C., McKeown, N. B., Attwood, D., D'Emanuele, A., *Int. J. Pharm.* **2000**, *197*, 239.
- [20] Ionov, M., Ciepluch, K., Rasines, B., Appelhans, D., Sánchez-Nieves, J., Gómez, R., de la Mata, F. J., Muñoz-Fernández, M. A., Bryszewska, M., *Curr. Med. Chem.* **2013**, *20*, 3935.
- [21] a) Briz, V., Serramía, M. J., Madrid, R., Hameau, A., Caminade, A. M., Majoral, J. P., Muñoz-Fernández, M. A., *Curr. Med. Chem.* **2012**, *19*, 5044; b) Okuda, T., Sugiyama, A., Niidome, T., Aoyagi, H., *Biomaterials* **2004**, *25*, 537; c) Dzmitruk, V., Shcharbin, D., Pedziwiatr-Werbicka, E., Bryszewska, M., *Dendrimers in Anti-HIV Therapy en Advances in Nanocomposite Technology*. InTech: **2011**; 361.
- [22] a) Rasines, B., Sánchez-Nieves, J., Maiolo, M., Maly, M., Chonco, L., Jiménez, J. L., Muñoz-Fernández, M. Á., de la Mata, F. J., Gómez, R., *Dalton Trans.* **2012**, *41*, 12733; b) Heredero-Bermejo, I., Copa-Patiño, J. L., Soliveri, J., García-Gallego, S., Rasines, B., Gómez, R., de la Mata, F. J., Pérez-Serrano, J., *Parasitol. Res.* **2013**, *112*, 961; c) Galán, M., Sánchez-Rodríguez, J., Cangioti, M., García-Gallego, S., Jiménez, J. L., Gómez, R., Ottaviani, M. F., Muñoz-Fernández, M. A., de la Mata, F. J., *Curr. Med. Chem.* **2012**, *19*, 4984.
- [23] a) van der Made, A. W., van Leeuwen, P. W. N. M., De Wilde, J. C., Brandes, R. A. C., *Adv. Mater.* **1993**, *5*, 466; b) Sánchez-Nieves, J., Ortega, P., Muñoz-Fernández, M. Á., Gómez, R., de la Mata, F. J., *Tetrahedron* **2010**, *66*, 9203.
- [24] El Kazzouli, S., Mignani, S., Bousmina, M., Majoral, J. P., *New J. Chem.* **2012**, *36*, 227.
- [25] a) Milani, M., Iacobelli, P., *Obstet. Gynecol.* **2012**, *2012*, 6; b) Dall, L., Peterson, S., Simmons, T., Dall, A., *Cutis* **2005**, *75*, 177; c) Scheinfeld, N., *Curr. Opin. Investig. Drugs* **2009**, *10*, 474.
- [26] Tomalia, D. A., Esfand, R., *Chem. Ind. London* **1997**, 416.

- [27] Gabriel, S., *Ber. Dtsch. Chem. Ges.* **1887**, *20*.
- [28] Beadle, B. M., Nicholas, R. A., Shoichet, B. K., *Protein Sci.* **2001**, *10*, 1254.
- [29] Llinas, A., Vilanova, B., Muñoz, F., Donoso, J., *J. Mol. Catal. A. Chem.* **2001**, *175*, 3.
- [30] a) Shi, X., Sun, K., James R. Baker, J., *J. Phys. Chem. B* **2008**, *112*, 8251; b) Esumi, K., Suzuki, A., Aihara, N., Usui, K., Torigoe, K., *Langmuir* **1998**, *14*, 3157; c) Sun, X., Jiang, X., Dong, S., Wang, E., *Macromol. Rapid Commun.* **2003**, *24*, 1024; d) Dong, P., Xin, J., Yang, X., Jia, J., Wu, W., Li, J., *RSC Adv.* **2014**, *4*, 44872.
- [31] a) Arnáiz, E. Dendrímeros carbosilano vía "click-chemistry" para aplicaciones biomédicas. Tesis Doctoral, Universidad de Alcalá, Alcalá de Henares, **2012**; b) Asaftei, S., Huskens, D., Schols, D., *J. Med. Chem.* **2012**, *55*, 10405; c) Martellini, J. A., Cole, A. L., Venkataraman, N., Quinn, G. A., Svoboda, P., Gangrade, B. K., Pohl, J., Sorensen, O. E., Cole, A. M., *FASEB J.* **2009**, *23*, 3609.
- [32] Ciepluch, K., Ionov, M., Majoral, J.-P., Muñoz-Fernández, M. A., Bryszewska, M., *J. Lumin.* **2014**, *148*, 364.
- [33] Kelly, S. M., Price, N. C., *Curr. Protein Pept. Sci.* **2000**, *1*, 349.
- [34] Yoo, J. W., Chambers, E., Mitragotri, S., *Curr. Pharm. Des.* **2010**, *16*, 2298.
- [35] Ogawara, K. i., Yoshida, M., Higaki, K., Kimura, T., Shiraishi, K., Nishikawa, M., Takakura, Y., Hashida, M., *J. Control. Release* **1999**, *59*, 15.
- [36] Shcharbin, D., Pedziwiatr, E., Chonco, L., Bermejo-Martín, J. F., Ortega, P., de la Mata, F. J., Eritja, R., Gómez, R., Klajnert, B., Bryszewska, M., Muñoz-Fernández, M. A., *Biomacromolecules* **2007**, *8*, 2059.