



FACULTAD DE FARMACIA
UNIVERSIDAD COMPLUTENSE

TRABAJO FIN DE GRADO

**TÍTULO: EMPLEO DE LA QUÍMICA CLICK
EN LA SÍNTESIS DE DENDRÍMEROS Y SU
APLICACIÓN EN EL CONTROL DE LA
INFECCIÓN POR VIH**

Autor: Isabel Tamargo Rubio

Fecha: Junio 2019

Tutor: María Teresa Ramos García

ÍNDICE

1. RESUMEN.....	3
2. OBJETIVOS.....	4
3. MATERIALES Y MÉTODO.....	4
4. INTRODUCCIÓN.....	4
4.1 DENDRÍMEROS.....	5
- Definición.....	5
- Clasificación.....	5
- Aplicaciones generales.....	6
4.2 QUÍMICA CLICK.....	6
- Definición y características.....	7
- Cicloadición 1,3-dipolar entre azidas y alquinos.....	8
-Mecanismo de reacción.....	10
5. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	11
- Métodos de síntesis clásicos de dendrímeros.....	11
- Aplicación de la reacción 1,3-dipolar.....	12
- Aplicación de dendrímeros en el tratamiento del VIH.....	16
7. CONCLUSIONES.....	19
8. BIBLIOGRAFÍA.....	20

1. RESUMEN

Los dendrímeros son una nueva clase de macromoléculas cuya naturaleza monodispersa las hace ideales para diferentes aplicaciones dentro del campo de la nanomedicina y la nanotecnología. Sin embargo, los procesos clásicos de síntesis de los mismos plantean una serie de inconvenientes que hacen que se vea reducido el rendimiento del proceso.

La química click y en concreto la reacción de cicloadición 1,3 dipolar se postula como una alternativa práctica y resolutive frente a estos problemas de síntesis presentando una mayor especificidad y con ello un mayor rendimiento.

El siguiente trabajo consiste en una revisión bibliográfica cuyo objetivo es recoger información acerca del proceso de síntesis de dendrímeros; para ello se plantea una ruta sintética basada en el empleo de la reacción de cicloadición 1,3-dipolar entre azidas y alquinos, englobada dentro de la llamada Química "click".

En primer lugar, se realiza una breve introducción acerca de la estructura y aplicaciones de los dendrímeros, seguido de un breve apartado referente a la química click y más en concreto a la reacción de cicloadición 1,3-dipolar entre azidas y alquinos, ya que será en la que se base la revisión. A continuación, se presenta la fusión de ambos conceptos en la síntesis de dendrímeros empleando la reacción previamente desarrollada. Para ello, se realiza una aproximación a las metodologías clásicas de síntesis de dendrímeros y se desarrolla a continuación el empleo de la reacción 1,3-dipolar en la síntesis de los mismos.

Una vez planteada esta nueva ruta sintética, se desarrolla un ejemplo de aplicación terapéutica de dendrímeros en el control de la infección por el virus de la inmunodeficiencia humana (VIH).

Con esta revisión se pretende presentar la reacción de cicloadición 1,3-dipolar como una herramienta altamente eficaz para la resolución de los problemas de síntesis clásica de dendrímeros obteniendo con ella mejores rendimientos.

ABSTRACT

Dendrimers are a new class of macromolecules whose monodisperse nature makes them ideal for different applications within the field of nanomedicine and nanotechnology. However, their classical synthesis pose a series of drawbacks that cause the yields of the process to be reduced.

The click chemistry and in particular the reaction of 1,3 dipolar cycloaddition reaction is postulated as a practical and resolutive alternative to these problems of synthesis presenting a greater specificity with higher yields.

The following work consists of a bibliographic review whose intention is to collect information about the process of synthesis of dendrimers; for this, a synthetic route based on the use of

the 1,3-dipolar cycloaddition reaction between azides and alkynes, encompassed within the so-called "click" chemistry, is proposed.

First of all, a brief introduction about the structure and applications of the dendrimers is carried out, followed by a brief section referring to the click chemistry and more specifically to the 1,3-dipolar cycloaddition reaction between azides and alkynes, since it will be on which the revision is based.

Next, the fusion of both concepts in the synthesis of dendrimers using the previously developed reaction is presented. For this, an approximation is made to the classical dendrimer synthesis methodologies and the use of the 1,3-dipolar reaction in the synthesis thereof is then developed.

Once this new synthetic route is presented, an example of therapeutic application of dendrimers in the treatment of HIV is developed.

This review aims to present the 1,3-dipolar cycloaddition reaction as a highly effective tool for solving the problems of classical synthesis of dendrimers obtaining better yields.

2. OBJETIVOS

El objetivo del presente trabajo es revisar y sintetizar la información bibliográfica disponible acerca del empleo de la química click y en concreto de la cicloadición 1,3-dipolar, como alternativa a la síntesis clásica de dendrímeros y su empleo en el tratamiento del VIH como ejemplo de aplicación terapéutica.

3. MATERIALES Y MÉTODO

La metodología utilizada para el desarrollo del trabajo ha consistido en una búsqueda y revisión bibliográfica exhaustiva de artículos científicos, noticias y demás publicaciones relacionadas con el tema de este trabajo, empezando por la química click, seguido por la síntesis de dendrímeros y por último la unión de ambos conceptos. Esta información fue obtenida de las siguientes plataformas: PubMed, ScienceDirect, BUCea, GoogleScholar y SciFinder.

Para acceder a los artículos de interés se emplearon las siguientes palabras clave: "click chemistry", "dendrimers", "HIV", "cycloaddition" y "dendrimers applications" entre otras.

4. INTRODUCCIÓN

Debido al creciente interés y preocupación por el deterioro del medio ambiente y por conseguir un enfoque sostenible para el futuro, la economía atómica y la química verde son elementos cada vez más importantes y a tener en cuenta para el desarrollo de nuevas metodologías sintéticas. Englobado dentro de este problema, encontramos la síntesis de dendrímeros, la cual se ha ido involucrando cada vez más en el desarrollo de tal enfoque. Para lograr dicho objetivo, los científicos están realizando esfuerzos para reducir elementos

contaminantes en el proceso de síntesis apoyándose en rutas sintéticas y reacciones más eficientes, selectivas y simples que evitan los problemas que caracterizan a los procesos de síntesis clásicos de estas macromoléculas. Una de las herramientas para lograr dicho objetivo, se basa en el empleo de la química click.

Para introducir el siguiente trabajo, dejaremos claros dos conceptos básicos que servirán de pilares para el desarrollo del mismo: un breve resumen acerca de los dendrímeros incluyendo su definición y clasificación, y una breve introducción a la química click prestando especial atención a la cicloadición 1,3-dipolar que será la que tratemos como nuevo método sintético para la síntesis de dendrímeros previamente mencionados.

4.1 DENDRÍMEROS

4.1.1. Definición:

Los dendrímeros son macromoléculas altamente ramificadas lo cual les confiere su aspecto arborescente⁽¹⁾ poliméricas y tridimensionales sintetizadas mediante una serie de reacciones repetitivas dando lugar a compuestos con características físico-químicas definidas⁽²⁾ ⁽³⁾. Se han introducido como una categoría concreta dentro de los polímeros y se diferencian de estos últimos por presentar una estructura química definida y ordenada.

El término «dendrímero» fue propuesto por Tomalia en 1985⁽⁴⁾ y procede del griego «dendrón» que significa «árbol» o «rama», y el sufijo «mero», que significa «segmento».

La naturaleza monodispersa de estas moléculas las hace ideales para aplicaciones biomédicas y las ha llevado a la vanguardia de la investigación biomédica. Para las aplicaciones biológicas, es clave que la monodispersión pueda ser reproducida ya que permite el desarrollo de la investigación de la relación estructura-actividad. Al conocer la composición de las macromoléculas, podemos relacionar la actividad biológica con aspectos específicos de la estructura. Esta es una herramienta poderosa para el desarrollo de nuevos medicamentos y dispositivos médicos⁽³⁾.

Clasificación⁽⁵⁾ (2):

Las macromoléculas dendríticas se pueden clasificar en varios tipos recogidos en la *Figura 1*.

Dentro de la familia dendrítica destacamos dos estructuras principales, dendrímeros y dendrones, siendo la principal diferencia entre ambos el punto de origen del crecimiento.

Dendrímeros: se generan desde un núcleo y en todas direcciones dando como resultado una estructura tridimensional de aspecto globular. Contienen 3 elementos estructurales tal como se representa en la *Figura 2*.

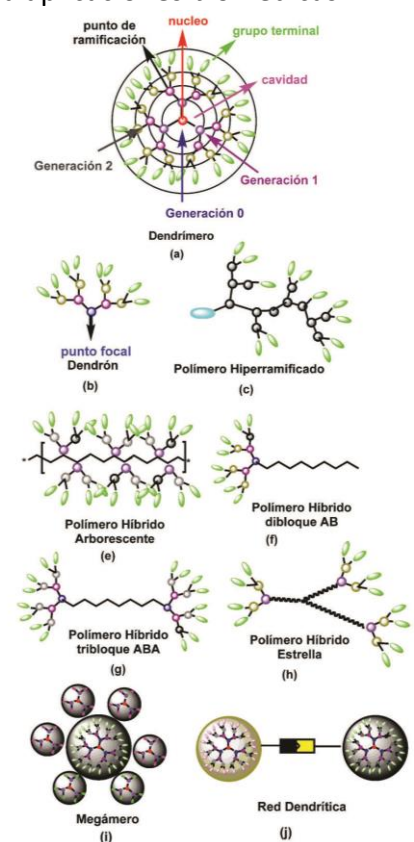


Figura 1. Clasificación de las diferentes macromoléculas dendríticas⁽⁵⁾

- a. Núcleo: puede ser un átomo o un conjunto de los mismos. El número de ramas que parten de él determina sus características, suelen ser 3, 4 o 6. Cuantas más ramas posea, menos huecos quedan en el interior de la estructura.

- b. Zona intermedia o nodo: formada por las unidades de repetición. La repetición de las mismas da lugar a las distintas capas o generaciones y los grupos funcionales que tenga actúan como nodos, determinando así el grado de ramificación de la estructura.

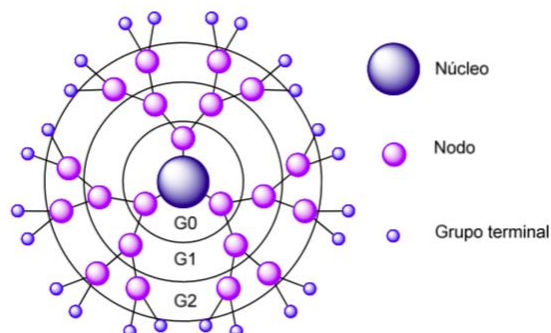


Figura 2. Estructura de un dendrímero ⁽²⁾

- c. Grupos funcionales terminales: se encuentran sobre la superficie y determinan las aplicaciones que podrá tener esa macromolécula. Su número está determinado por el grado del dendrímero, el número de ramas que parten del núcleo y la ramificación de los nodos.

Dendrones: son moléculas ramificadas con diferentes grupos funcionales en el núcleo y en la periferia (*Figura 1b*). Se sintetizan paso a paso y en el último paso de la síntesis los dendrones se unen desde su punto focal a un núcleo central dando lugar al dendrímero.

Además de estos dos tipos principales encontramos:

Polímeros hiperramificados al azar: son moléculas menos perfectas que los dendrímeros ya que no siguen una estructura definida, la ventaja que presentan respecto a los dendrímeros es que tienen un alto número de grupos funcionales y se obtienen de forma más sencilla y barata siendo por ello una alternativa muy prometedora cuando sus aplicaciones toleran la imperfección (*Figura 1c*).

Copolímeros híbridos dendríticos-lineales: combinan dos tipos de estructuras muy diferentes y se clasifican en:

- Dibloque AB (*Figura 1f*) o tribloque ABA (*Figura 1g*) o dumbbell.
- Copolímeros híbridos dendronizados o “dendronized”.
- Copolímeros estrella dendríticos lineales (*Figura 1h*).

4.1.2. Aplicaciones generales:

La síntesis de estas moléculas ha adquirido gran importancia en los últimos años en el campo de la biofarmacia, empleándose para funciones tan variadas como ⁽³⁾:

- Transporte de fármacos, con el fin de aumentar la biodisponibilidad y la fracción activa de los mismos y liberación controlada ⁽⁵⁾.

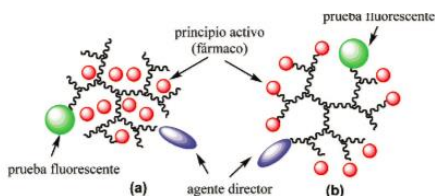
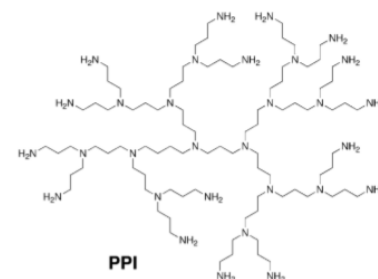


Figura 3. Estrategias principales para el transporte de fármacos usando dendrímeros como vehículos.⁽⁵⁾

- En terapia génica para el transporte de ADN, ARN, plásmidos al interior de las células.
- En vectorización de fármacos.
- En administración transdérmica de fármacos.
- Como antivirales, interfiriendo con el ciclo replicativo de virus, postulándose su posible aplicación en dispositivos barrera para la prevención de enfermedades de transmisión sexual, como los microbicidas. Uno de los dendrímeros aniónicos más exitosos es VivaGel[®], un dendrímero sulfonado de polilisina (3).
- Antibacterianos: en el año 2000, Cooper et al. Sintetizaron dendrímeros PPI con grupos de amonio cuaternario en la periferia con acción sobre las bacterias (3).
- Antitumorales: en tratamientos fotodinámicos en los cuales el fármaco se convierte en tóxico después de la irradiación porque da lugar a pequeñas cantidades de oxígeno.
- Como vacunas actuando como soporte estructural de péptidos antigénicos en el diseño de estrategias de vacunación.



4.2 QUIMICA CLICK

4.2.1 Definición y características:

La llamada química click surge en el año 2001 desarrollada por el profesor Sharpless y colaboradores con la intención de definir una nueva metodología sintética basada en un conjunto de transformaciones químicas fiables y prácticas. Esta metodología se basa en la unión de estructuras moleculares pequeñas, vía enlaces C-heteroátomo, de forma sencilla y altamente eficaz dando lugar a moléculas de mayor tamaño.

“No se trata tanto de una disciplina científica como de una filosofía sintética inspirada en la química combinatoria que lleva a cabo la propia Naturaleza”⁽⁶⁾.

Dentro de esta metodología, encontramos una serie de reacciones prototipo conocidas como *click reactions* las cuales aparecen representadas en la *Figura 4*. Los materiales de partida de estas reacciones tienen un alto contenido energético lo cual da lugar a una unión espontánea e irreversible.

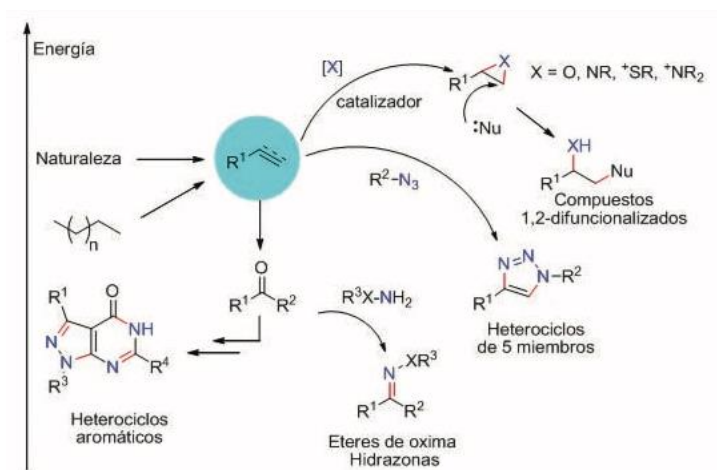


Figura 4. Reacciones prototipo de la Química Click⁽⁶⁾.

Entre este conjunto de reacciones encontramos:

- Reacciones de cicloadición como las 1,3-dipolares.
- Cicloadiciones [4+2] como las hetero Diels-Alder.
- Reacciones de sustitución nucleofílica/apertura de anillo.
- Reacciones del grupo carbonilo de tipo no aldólica.
- Reacciones de adición a enlaces múltiples C-C, como la epoxidación.

Este tipo de reacciones deben presentar una serie de características comunes para poder incluirse en este grupo, entre estas características encontramos:

- Condiciones de reacción simples, mediante el uso de reactivos fácilmente disponibles.
- Tolera una gran variedad de grupos funcionales y condiciones de reacción.
- Selectiva y regioespecífica.
- Elevado rendimiento.
- Insensible al oxígeno y al agua.
- Producción de subproductos inofensivos o fácilmente eliminables mediante técnicas no cromatográficas.
- Aislamiento sencillo del producto final.
- No producen reacciones secundarias.
- Productos de partida fáciles de obtener.

Gracias a su alto rendimiento, la escasa toxicidad de los productos obtenidos, el empleo de disolventes seguros o su alta eficiencia energética, podemos incluir a este tipo de reacciones dentro de la llamada química sostenible o química verde, que se presenta como un conjunto de reacciones en las que la síntesis de nuevas moléculas y el cuidado del medio ambiente se dan estrechamente la mano.

4.2.2 Cicloadición 1,3-dipolar entre azidas y alquinos:

Dentro de este conjunto de reacciones, la más representativa y en la que se basará el siguiente trabajo es la cicloadición 1,3-dipolar entre azidas y alquinos. Se trata de una reacción descrita por Huisgen en 1960, termodinámicamente favorable y que dada la elevada facilidad para

introducir grupos azida y alquino en compuestos orgánicos, se convierte en la ruta sintética más eficiente para dar lugar a 1,2,3-triazoles⁽⁶⁾.

Este proceso requiere elevadas temperaturas, condiciones de reflujo y tiempos elevados de reacción; bajo estas condiciones se forman dos regioisómeros, 1,4 y 1,5, en un proporción prácticamente equimolar.

El gran impacto de esta reacción se produjo cuando se descubrió que podía ser catalizada por iones cobre (I)⁽⁷⁾, transcurriendo con mayor velocidad de reacción y una completa regioselectividad a favor del isómero 1,4 de forma exclusiva. El efecto del empleo de cobre aparece representado en la siguiente figura.

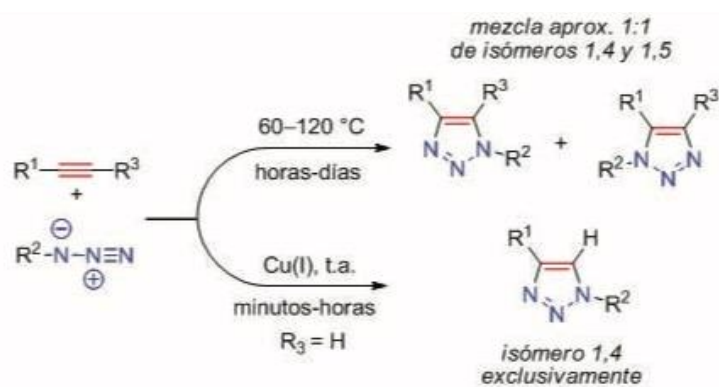


Figura 5. Diferencias en la síntesis de triazoles empleando Cu(I) como catalizador o sin emplearlo⁽⁶⁾.

Sobre esta reacción se han ido realizando modificaciones y mejoras, hasta finalmente ser capaces de poder llevarla a cabo en medio acuoso mediante el empleo de sulfato de cobre pentahidratado y ascorbato sódico, aportando así un mayor valor añadido. Al ser una reacción tan exotérmica, la formación de los triazoles se ve facilitada porque el propio agua actúa como refrigerante.

Esta reacción constituye, uno de los procesos catalíticos que más ha impactado en la química en los últimos años, presentando numerosas aplicaciones en campos como: síntesis de nuevos fármacos, reacciones de conjugación de biomoléculas y síntesis de nuevos materiales⁽⁸⁾.

Gracias a que comparte todas las características previamente mencionadas, se ha convertido en una reacción muy poderosa para llevar a cabo la unión de dos bloques moleculares portando cada uno un grupo alquino y otro azida, de forma rápida y eficiente.

El catalizador esencial para desarrollar esta reacción se puede obtener de distintas fuentes⁽⁶⁾:

1. Reducción de sales de Cu (II): se realiza *in situ* con compuestos que contengan Cu (II) y un agente reductor. Se trata de un proceso que no requiere atmósfera inerte y se puede usar agua como disolvente.
2. Oxidación de cobre metálico: se añade en forma de alambre en presencia de sales de Cu (II) dando lugar a Cu (I) y a la activación de la cicloadición entre alquinos y azidas. Requiere de tiempos de reacción y cantidad de producto de partida mayores.

3. Como alternativa al método anterior encontramos el empleo de nanopartículas de Cu (0). Un inconveniente que presenta es que requiere de la presencia del hidrócloruro de una amina si las nanopartículas no están agregadas. Esta técnica, a diferencia de las ya mencionadas, requiere un medio ligeramente ácido, lo cual implica el empleo de protectores sobre los posibles grupos sensibles al ácido, y además se trata de un proceso muy caro.
4. Adición de sales de Cu (I): es un método también muy extendido; la adición de alguna base de nitrógeno (DIPEA), favorece la cicloadición reduciendo la formación de subproductos. Sin embargo, la ausencia de estudios acerca del papel concreto de las bases impide afirmar el papel específico de las mismas aunque se cree que ayudan a prevenir la degradación del Cu (I)⁽²⁾.

4.2.2.1 Mecanismo de la reacción de cicloadición 1,3-dipolar entre azidas y alquinos:

Los diferentes estudios realizados no permiten proponer un único mecanismo para esta reacción.

Para la reacción catalizada por cobre(I) se propone un mecanismo diferente que para la reacción térmica y se representa en la *figura 6*.

La reacción comienza con la coordinación del alquino a una especie de cobre mediante los electrones π del enlace. Este compuesto de coordinación evoluciona hacia la formación de un acetiluro de cobre. Este tipo de coordinación favorece la acidez del enlace Csp-H, permitiendo que el agua capte el protón alquílico sin la necesidad de añadir una base.

A continuación entra en juego la azida desplazando el ligando de cobre uniéndose al mismo, se activa la azida y esta realiza un ataque nucleofílico al carbono del alquino terminal dando lugar a un metalociclo.

Finalmente se forma el triazol y el cobre empleado en la reacción se reincorpora al ciclo catalítico⁽²⁾.

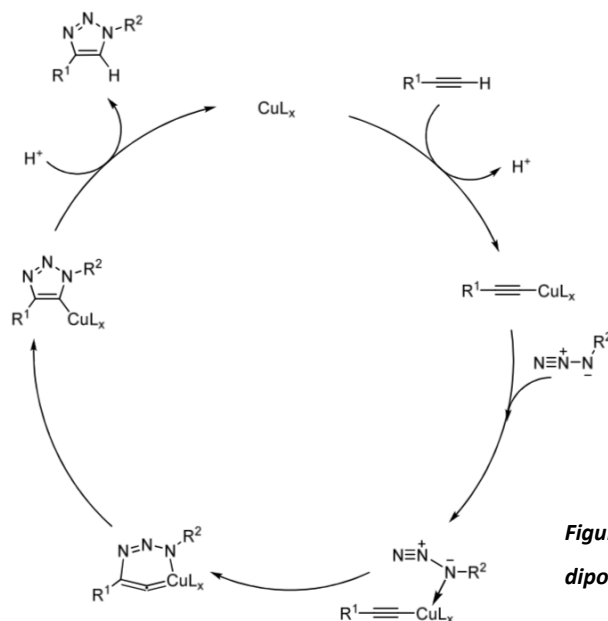


Figura 6. Modelo del mecanismo de la reacción 1,3-dipolar catalizada por cobre.

EL triazol formado es una estructura rígida que mimetiza las propiedades electrónicas de un enlace peptídico, con la ventaja de ser inactivo a la hidrólisis enzimática. La distancia entre R1 y R2 en un enlace peptídico es 3.9 Å, mientras que en un anillo de triazol esa distancia se convierte en 5 Å. El hecho de que sea un buen peptidomimético tiene que ver con que el triazol tiene un momento dipolar mayor que el enlace peptídico, lo que aumenta la similitud entre ambas estructuras⁽⁶⁾.

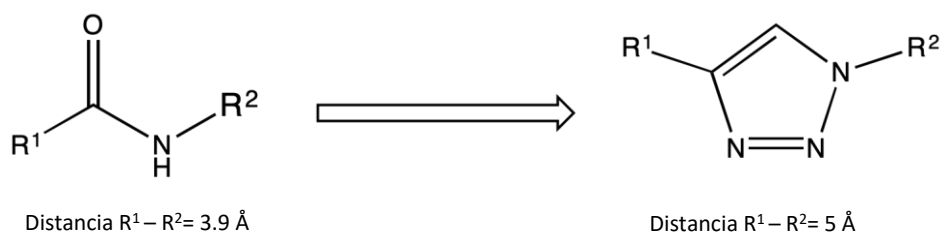


Figura 7. Similitudes topológicas y electrónicas entre amidas y 1,2,3-triazoles.

A pesar de la fiabilidad de esta reacción, nos encontramos con dos problemas importantes. El primero de ellos se trata del potencial explosivo de las azidas orgánicas ya que son compuestos sumamente energéticos, y exige evaluar la capacidad explosiva de las azidas antes de usarlas⁽⁶⁾.

Por otro lado, nos encontramos con el problema del uso del cobre como catalizador. Este metal presenta posibles efectos tóxicos por acumulación en ciertos tejidos, y los productos finales de la reacción pueden ir contaminados en mayor o menor medida por este metal. Esto supone un inconveniente a la hora de sintetizar diferentes compuestos con posterior aplicación en el campo de la biomedicina⁽⁷⁾⁽⁹⁾.

5. RESULTADOS Y DISCUSION

5.1 MÉTODOS DE SÍNTESIS CLÁSICOS DE DENDRÍMEROS

Los dendrímeros se sintetizan sistemáticamente, desde su centro, generación tras generación, donde cada capa nueva de ramas se construye sobre los extremos terminales libres de la capa anterior. Además, cabe destacar como proceso común dos fases fundamentales en su síntesis: acoplamiento y activación. La repetición sucesiva de las mismas da lugar a estas estructuras.

Tradicionalmente la síntesis de dendrímeros se ha llevado a cabo mediante dos metodologías sintéticas. La primera de ellas fue descrita por el grupo de investigación de Tomalia y Newkome y se denominó método divergente BG; la segunda fue desarrollada en el año 1990 por los grupos de Fréchet⁽¹⁰⁾ y Miller⁽¹¹⁾.

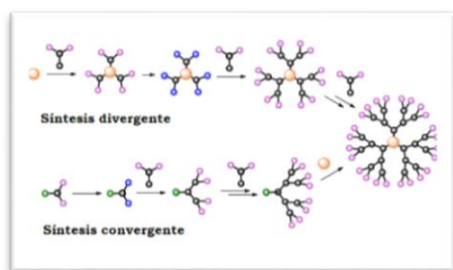


Figura 8. Esquema síntesis convergente y divergente.

Método divergente:

El dendrúmero crece desde el centro de la estructura hacia el exterior⁽¹²⁾. Se parte de un núcleo multifuncional que se hace reaccionar con una unidad de repetición dando lugar a la siguiente generación. Una vez tenemos la primera generación se realiza el mismo proceso con los grupos funcionales de la unidad de repetición, los cuales se activan y se hacen reaccionar de nuevo dando lugar a la generación siguiente. El elevado número de reacciones que tienen que ocurrir en una molécula al mismo tiempo y el aumento de densidad de grupos funcionales en la periferia dificulta obtener altos rendimientos⁽²⁾. Sin embargo, presenta la ventaja de obtener dendrúmeros de generaciones más altas evitando impedimentos estéricos⁽¹⁵⁾.

Método convergente:

A diferencia del anterior, la estructura comienza a construirse desde fuera hacia dentro dando lugar al dendrón. A continuación, varios dendrones reaccionan con un núcleo común para dar lugar a la estructura final del dendrúmero⁽¹²⁾. En este caso, el número de fallos disminuye porque hay cada vez menor número de grupos funcionales activados, sin embargo, a medida que crecen los dendrones aumenta el impedimento estérico⁽²⁾. Las separaciones por cromatografía son complejas debido al alto parecido entre las generaciones, sobre todo las más altas, con lo cual queda limitada a la síntesis de dendrúmeros de baja generación.

5.2 APLICACIÓN DE LA REACCION 1,3-DIPOLAR EN LA FORMACION DE NUEVOS DENDRIMEROS

La síntesis clásica de dendrúmeros se enfrenta a una serie de inconvenientes, como son las largas rutas sintéticas, la eliminación de exceso de catalizadores y reactivos, procesos de purificación extensivos y aumento del precio conforme aumenta la generación. Todo ello ha supuesto un obstáculo para el progreso en esta área.

El desarrollo de la química click y en concreto de la reacción de cicloadición 1,3-dipolar, presenta más ventajas respecto a los métodos sintéticos clásicos gracias a la rapidez con la que ocurren las reacciones y las sencillas purificaciones⁽¹³⁾⁽¹⁴⁾

El hecho de que sea una reacción tan precisa, permite su empleo sin que se alteren el resto de grupos funcionales. Además, los científicos pretenden acercarse cada vez más al empleo de la química verde para el desarrollo de este tipo de moléculas, para lo que la química click supone también otra ventaja respecto a los métodos anteriores.

La química click se puede usar en varios puntos dentro de la síntesis de dendrúmeros:

- Puede usarse sobre el núcleo consiguiendo la unión de dendrones con diferentes características.
- Puede formar parte del crecimiento de la estructura, con lo cual las uniones realizadas por química click se localizarán en los nodos de ramificación.
- Puede servir para la modificación de la superficie del dendrúmero modificando con ello sus distintas aplicaciones y las características generales de la molécula.

5.2.1. Funcionalización en el núcleo:

El empleo de la química click en este punto, se ha consolidado como un método muy efectivo para la unión de dendrones en la síntesis convergente para dar lugar a la estructura final del dendrímero.

Gracias a esta nueva metodología sintética se pueden obtener dendrímeros asimétricos.

Un ejemplo de este tipo de química se incluye en el trabajo desarrollado por Lee y colaboradores uniendo dendrones tipo Fréchet y tipo PAMAM obteniendo el resultado presentado en la *Figura 9*⁽²⁾.

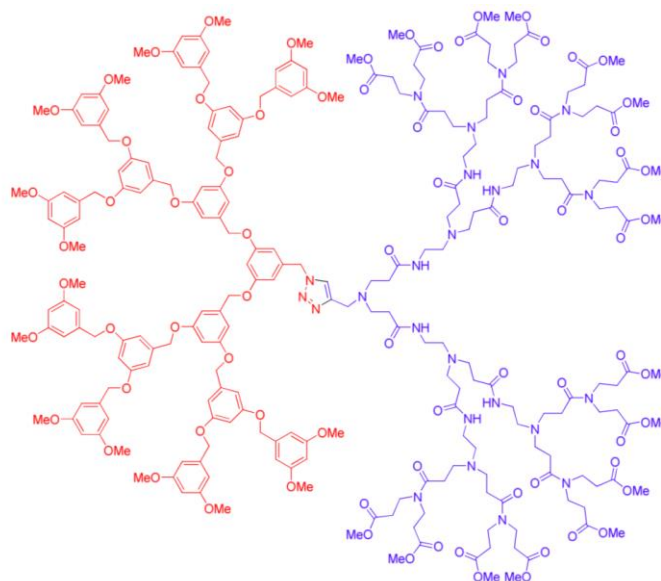


Figura 9. Dendrímero mixto sintetizado por "Click chemistry" ⁽²⁾.

5.2.2. Síntesis convergente: funcionalización en los nodos de ramificación:

Posteriormente, se desarrolló una síntesis de dendrímeros en la cual cada generación estaba unida por núcleos de triazol resultantes de la reacción 1,3- dipolar, dando como resultado una metodología de síntesis convergente con un elevado rendimiento y con bajo tiempo de construcción, además de presentar la superficie del dendrímero fácilmente modificable para ajustar las características.

En este caso, se hace reaccionar un monómero con dos funciones alquino terminales y un haluro de alquilo primario. En la primera parte de la reacción el bis-alquino reacciona con alquilazidas dando lugar al compuesto [G1Cl]. A continuación, el haluro de alquino aún presente en la estructura se hace reaccionar con azida de sodio para obtener la correspondiente azida-bistriazol.

El siguiente paso consiste en ir ramificando la estructura, para ello sustituimos la alquil-azida inicial por el producto obtenido en la anterior etapa. De esta forma se van construyendo los dendrones que en una etapa final se unirán entre si dando lugar a la estructura definitiva del dendrímero ⁽¹³⁾⁽¹⁵⁾ La secuencia de reacciones aparece representada en la *Figura 10*.

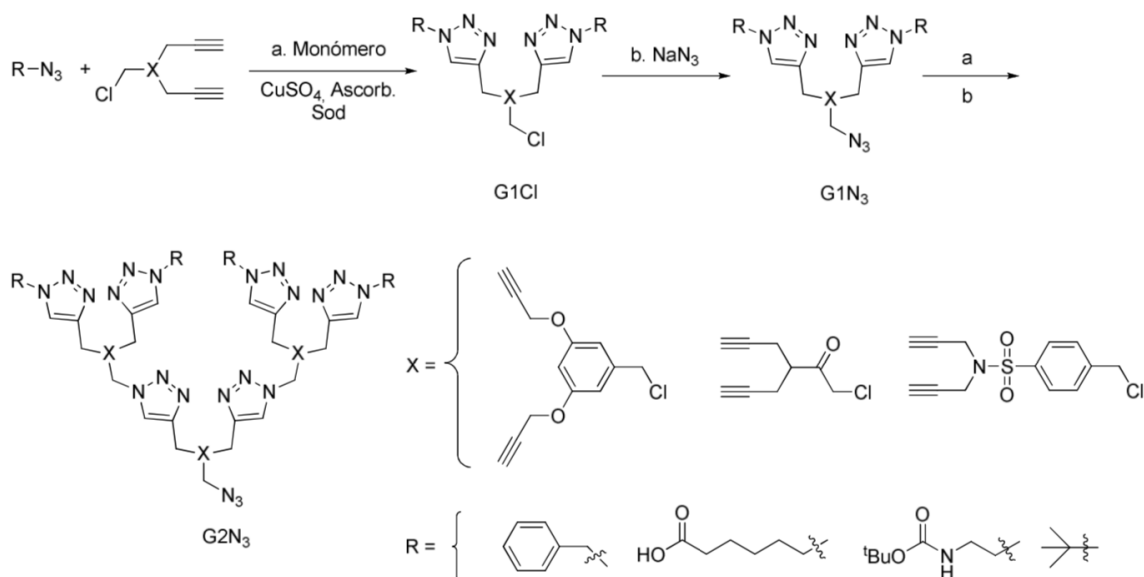


Figura 10. Dendrímeros sintetizados mediante química click siguiendo el método convergente⁽²⁾

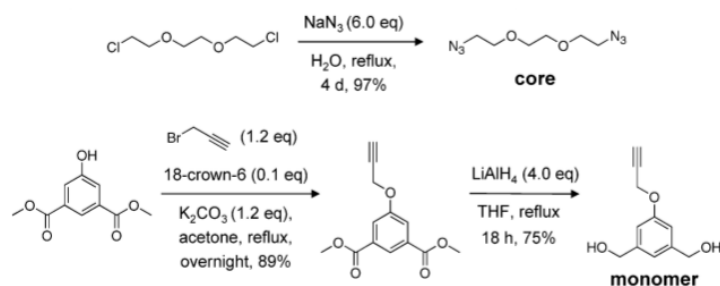
5.2.3. Método divergente:

En otro ejemplo basado en el método divergente, la síntesis comienza por el núcleo que contiene grupos azida. Este núcleo se sintetiza a partir de 1,2-bis(2-cloroetoxi)etano que se hace reaccionar con azida de sodio.

Por otro lado, se sintetiza el monómero en dos etapas de reacción a partir de 5-hidroxifitalato de dimetilo. En primer lugar, se realiza una alquilación sobre el grupo fenol y posteriormente una reducción de las dos funciones éster.

Una vez obtenidos estos dos elementos, se procede a obtener la primera generación del dendrón haciendo reaccionar el núcleo junto a dos equivalentes del monómero obteniendo $(OH)_4$ -[G1]. A continuación, se hacen reaccionar las 4 funciones OH del dendrón con $SOCl_2$ y NaN_3 dando lugar a $(N_3)_4$ -[G1]. Esta molécula se hará reaccionar con otros 4 equivalentes del monómero y se irán repitiendo los pasos anteriores hasta dar lugar a la generación del dendrímero deseada⁽¹⁶⁾.

Las ventajas que presenta respecto al método clásico, es que al ser una reacción más específica se producen menos errores generación tras generación, inconveniente que presentaba el método clásico por dejar el descubierto muchos grupos funcionales en la superficie que deben reaccionar a la vez. Además, requiere de muy poca o ninguna purificación.



Síntesis de la primera generación del dendrímero.

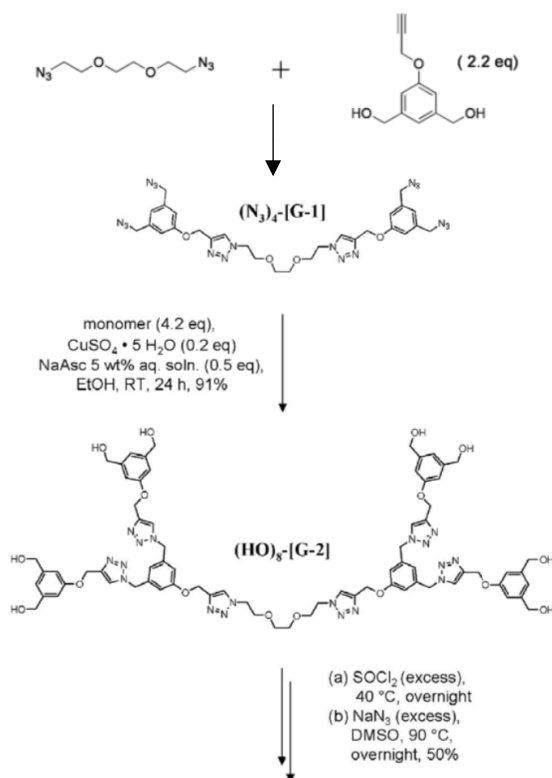


Figura 11. Dendrímero sintetizado mediante química click siguiendo el método divergente (16).

5.3.4. Funcionalización en la periferia:

Es la técnica más empleada de todas, y permite otorgar a nuestro dendrímero de las características necesarias para su empleo.

Un ejemplo de este tipo de modificaciones consiste en la síntesis de dendrones que después se derivatizan para instalar en la superficie de los dendrímeros grupos alquino terminales, los cuales se hacen reaccionar con grupos azida obteniendo con ello estructuras modificadas con diferentes ligandos (18).

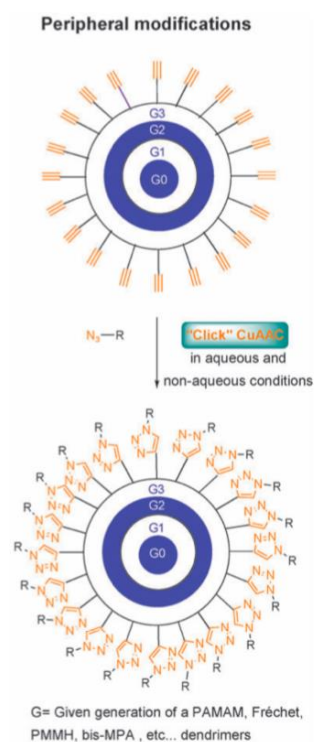


Figura 12. Funcionalización en la superficie de un dendrímero mediante química click (19).

A pesar del impacto de esta reacción en la síntesis de dendrímeros, está perdiendo fuerza debido a la necesidad de eliminar el cobre por una posible toxicidad en el organismo. Actualmente esta reacción se está empleando para decorar los dendrímeros en la superficie y para sintetizar algunas estructuras concretas. La eliminación del cobre sigue siendo un problema a resolver, aunque se ha descrito varios métodos que podrían permitir su eliminación⁽²⁰⁾.

5.3 APLICACIÓN DE DENDRÍMEROS EN EL TRATAMIENTO DE LA INFECCIÓN POR VIH

VIH: Virus de la Inmunodeficiencia Humana

El virus de la inmunodeficiencia humana (VIH) infecta a las células del sistema inmunitario, alterando o anulando su función y, si no se trata, produce un deterioro progresivo del sistema inmunitario que deriva en una inmunodeficiencia.

El control de esta enfermedad continúa planteando retos ya que no existe tratamiento curativo ni vacuna.

El tratamiento actual de esta enfermedad se denomina tratamiento antirretroviral (TAR). Este tratamiento actúa principalmente sobre las enzimas virales proteasa y transcriptasa inversa combinando tres o más fármacos clínicamente aprobados. El TAR no cura la infección pero sí frena la replicación del virus en el organismo e impide el desarrollo de inmunodepresión⁽²¹⁾.

A pesar del éxito logrado, el tratamiento actual presenta efectos secundarios a largo plazo y se han identificado cepas de VIH resistentes. En la búsqueda de nuevos métodos de control de la infección por VIH, los dendrímeros se están investigando con resultados prometedores.

Empleo de dendrímeros en el control del VIH:

En la etapa temprana de la replicación del VIH, el virus debe unirse e ingresar en las células huésped. Las células T CD4 + son uno de los objetivos más comunes para el virus, y la entrada a las mismas se produce mediante la formación de un complejo ternario entre gp120, una glicoproteína presente en la superficie de la envoltura del VIH, CD4 y co-receptores CCR5 o CXCR4⁽²¹⁾. En la glicoproteína gp120 encontramos un bucle cargado positivamente, V3; si este bucle se expone a polianiones, la entrada del virus a la célula se puede bloquear. Ésta será la diana principal sobre la que actúen los dendrímeros, impidiendo la internalización del virus.

Encontramos dos tipos de dendrímeros con posible aplicación en el tratamiento del VIH:

- Catiónicos: los dendrímeros de este tipo, en concreto los de tipo carbosilano catiónico⁽²²⁾, son capaces de inhibir por sí mismos la actividad del VIH. Aunque hoy en día se desconoce el mecanismo de acción de este tipo de sustancias, sí se ha podido establecer que tiene lugar en fases tempranas de la infección y presenta mejores resultados a mayor carga viral⁽²⁾.
- Aniónicos: los dendrímeros aniónicos empleados como antivirales funcionan compitiendo con la superficie de las células por la unión al virus. La superficie celular es de carácter aniónico, por tanto estos dendrímeros presentan en la superficie grupos aniónicos como residuos sulfonato o de ácido siálico, los cuales también se encuentran presentes en la superficie celular. Gracias a esta competición, se reduce la probabilidad de infección de las células por parte del virus⁽³⁾.

Los dendrímeros de tipo aniónico son los más conocidos por sus propiedades antivirales por lo que me centraré en este grupo para el desarrollo del siguiente apartado, en concreto, en aquellos que se encuentran funcionalizados en la superficie con grupos sulfonato ya que son los candidatos mas eficaces para este tipo de aplicación.

La síntesis clásica de estos productos se realiza preparando el producto sulfonado o sulfatado en primer lugar y después se funcionaliza el dendrímero con él. Sin embargo, la química click ha realizado su aportación también en el desarrollo de este tipo de dendrímeros, y será la metodología sintética en la que nos centraremos.

Revisando la bibliografía, nos encontramos con dos ejemplos de este tipo de dendrímeros funcionalizados a través de la química click. El empleo de esta reacción viene promovida por las características que hemos comentado previamente: simplicidad, método de purificación sencillo y elevados rendimientos, entre otras.

El primero de ellos, es un dendrímero basado en unidades de ácido gálico con fragmentos de polietilenglicol sobre los que se realiza una cicloadición entre un derivado naftalenosulfato funcionalizado con un grupo alquino. Esta unidad, se une mediante química click a la superficie de dendrímero que se encuentra previamente funcionalizada con un grupo azida, dando lugar al triazol correspondiente. Además de con grupos naftalenosulfato, se han funcionalizado dendrímeros con grupos sulfato en las mismas condiciones⁽²³⁾.

La reacción se produce con rendimientos superiores al 90% gracias a la especificidad de la reacción de cicloadición.

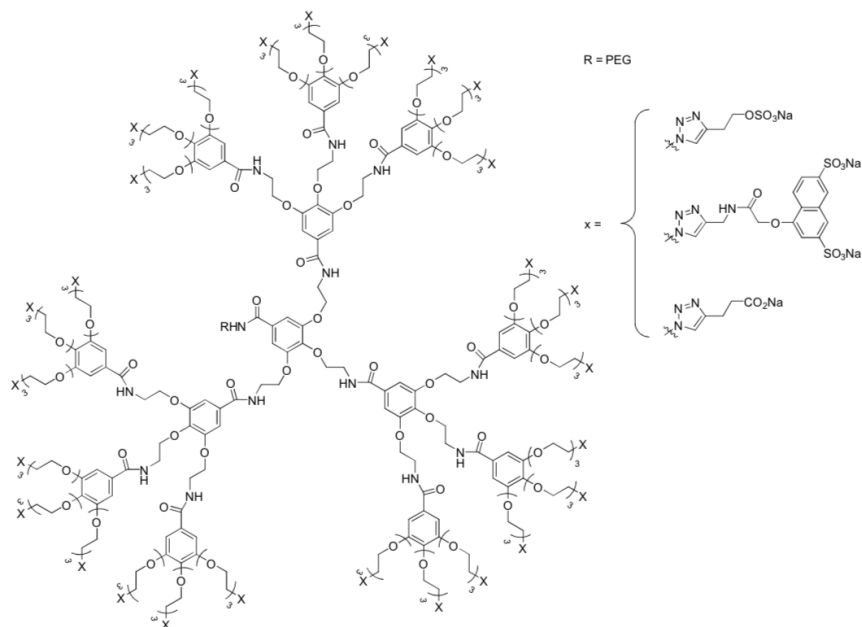


Figura 13. Dendrimer funcionalizado por química click⁽²⁾.

El segundo ejemplo que encontramos emplea un método similar al desarrollado previamente. En primer lugar se sintetiza un dendrímero basado en unidades de glicerol con grupos azida en la superficie, a los cuales se unen los grupos sulfonato funcionalizados con un grupo alquino, dando lugar con ello a la reacción de cicloadición 1,3-dipolar y funcionalizando el dendrímero⁽²⁴⁾.

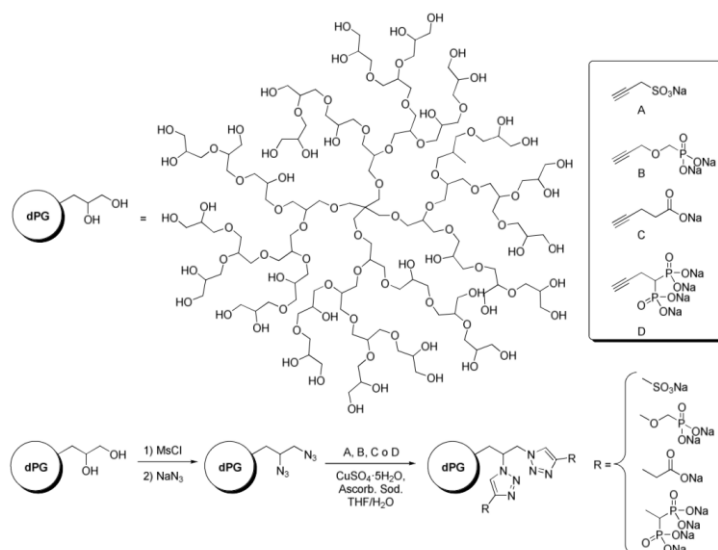


Figura 14. Dendrímero funcionalizado por química click⁽²⁾.

Tal como hemos visto, los dendrímeros con mayor eficacia en este tipo de tratamientos, presentan una superficie de carácter aniónico la cual les permite la unión al virus evitando que éste se una a la célula huésped. Este carácter polianiónico hace que su permanencia en sangre sea muy baja y algunos de ellos tienen propiedades anticoagulantes. Todo ello impide que puedan ser utilizados como inhibidores de la unión de virus del VIH a células sanas. Sin embargo, estos factores carecen de importancia en el caso de que la síntesis de estas sustancias se plantee dirigida a una futura aplicación de carácter tópico.

Como ejemplo concreto de este tipo de aplicación encontramos al único dendrímero que ha conseguido superar fase III de ensayos clínicos, se trata de una estructura con grupos naftilosulfato en la superficie con propiedades anti-VIH llamado VivaGel[®]⁽²⁵⁾.

Se trata de un dendrímero basado en unidades de lisina y funcionalizado con grupos naftilsulfato que ha superado los ensayos clínicos de fase I contra el VIH tipo I y II con un porcentaje superior al 95%. Además, ha pasado las fases I, II y III para su empleo contra la vaginosis bacteriana⁽²⁶⁾.

Un grupo de investigación de la Universidad de Alcalá de Henares en colaboración con el Hospital Gregorio Marañón, se encuentra en el desarrollo de un gel similar. Este microbicida de uso tópico se basa precisamente en moléculas dendríticas, y ya ha demostrado su efectividad en los ensayos in vitro realizados hasta el momento⁽²⁷⁾.

6. CONCLUSIONES

- Los dendrímeros se están postulando como una herramienta muy útil en el campo de la biotecnología. Presentan en la superficie un gran número de grupos funcionales, lo que les convierte en perfectos candidatos para aplicaciones tan diversas como la ciencia de materiales o la biomedicina. Además, su naturaleza monodispersa los hace perfectos para este tipo de aplicaciones.
- Los elementos activos pueden encontrarse en el interior de los dendrímeros o anclados en la superficie, pudiendo adaptar la estructura de los dendrímeros a las necesidades de la aplicación.
- La química click en general, es y será, una importante herramienta en temas relacionados con la biotecnología y el desarrollo de distintos campos de la medicina. Es capaz de reducir la distancia que se presenta entre la química y la biología, acercándolas cada vez más, permite el desarrollo de nuevas terapias o tratamientos basados en su empleo ⁽¹⁷⁾.
- La reacción de cicloadición 1,3-dipolar englobada dentro de la química click, se presenta como un método simple y eficaz para la síntesis de dendrímeros y la modificación de su superficie. Además, es un método limpio englobado dentro del concepto de química verde. El único inconveniente que presenta es la posible toxicidad en sistemas vivos producida por el cobre, aunque ya se han propuesto algunos métodos para su eliminación.
- La irrupción en el campo de la biomedicina de los dendrímeros y la química click ha dado lugar a nuevas estrategias terapéuticas para la prevención y/o tratamiento del VIH demostrando su eficacia con moléculas de tipo aniónico.
- En el futuro, los dendrímeros presentan un gran potencial como herramienta para el desarrollo de nuevas estrategias terapéuticas, combinándose con fármacos o moléculas para obtener nuevos compuestos farmacéuticos con un alto valor terapéutico.

BIBLIOGRAFÍA

1. 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]. Madrid: Universidad de Alcalá; 2013.
2. Arnáiz Garrido, E. Nuevos dendrímeros de tipología carbosilano vía "Click Chemistry". Síntesis, caracterización y aplicaciones biomédicas. [Tesis doctoral]. Madrid: Universidad de Alcalá; 2012.
3. Gonzalo, T; Muñoz-Fernández, M.A. Dendrimeros y sus aplicaciones biomédicas. Monografías de la RAN de Farmacia, Monografía XXVIII: nanotecnología Farmacéutica, 2009; 169-200. DOI: <http://dx.doi.org/ES/monoranf.v0i0.992>
4. Tomalia, D.A; Baker, H; Dewald, J; Hall, M; Kallos, G; Martin, S; Roeck, J; Ryder, J; Smith, P. A New Class of Polymers Starburst-Dendritic Macromolecules. Polymer Journal [Internet].1985; 17 (1): 117-132.
5. Marcos, M; Serrano, J.L. Polímeros dendríticos. An. Quím [Internet]. 2009; 105 (2):103–110.
6. Díaz, D.D; Finn, M.G; Sharpless, K.B; Fokin, V.V. Cicloadición 1,3-dipolar de azidas y alquinos. I: Principales aspectos sintéticos. An Quím [Internet] 2008; 104 (3): 173-180.
7. Suárez, A. Reacciones de cicloadición 1,3-dipolares a alquinos catalizadas por cobre. An Quím. 2012; 108 (4): 306-313..
8. Mintzer, M.A; Grinstaff, M.W. Biomedical applications of dendrimers: a tutorial. Chem Soc Rev [Internet]. 2011;40(1):173–90. Available from: <http://xlink.rsc.org/?DOI=B901839P>
9. Moses, J.E; Moorhouse, A.D. The growing applications of click chemistry. Chem Soc Rev [Internet]. 2007;36(8):1249–62. Available from: <http://xlink.rsc.org/?DOI=B613014N>
10. Hawker, C.J.; Fréchet, J.M.J. Preparation of polymers with controlled molecular architecture. A new convergent approach to dendritic macromolecules. J. Am. Chem. Soc [Internet]. 1990; (112, 7638-7647). DOI: 10.1021/ja00177a027
11. Miller, T.M; Neenan, T.X. Convergent synthesis of monodisperse dendrimers based upon 1,3,5-trisubstituted benzenes. Chem. Matter [Internet]. 1990; (2, 346-349).
12. Pacero Bouzas, S. Síntesis acelerada de dendrímeros mediante cicloadición térmica azida-alquino. [Tesis doctoral]. Santiago: Universidad de Santiago de Compostela; 2014.
13. Wu, P; Malkoch, M; Hunt, JN; Vestberg, R; Kaltgrad, E; Finn, M.G et al. Multivalent, bifunctional dendrimers prepared by click chemistry. Chem Commun [Internet]. 2005;(46):5775. Available from: <http://xlink.rsc.org/?DOI=b512021g>
14. Ribeiro Viana, R.M. Síntesis y evaluación biológica de sistemas glicodendríticos basados en la reacción de cicloadición 1,3-dipolar catalizada por Cu (I). [Tesis doctoral]. Sevilla: Instituto de Investigaciones Químicas del Centro de Investigaciones Científicas Isla de la Cartuja; 2012.
15. Wu, P; Feldman, A.K; Nugent, A.K; Hawker, C.J; Scheel, A; Voit, B; Pyun, J; Frechet, J.M.J; Sharpless, K.B; Fokin, V.V. Angew. Chem. Int. Ed. 2004, 43, 3928.
16. Joralemon, M.J; O'Reilly RK, Matson, J.B; Nugent, A.K; Hawker, C.J; Wooley, K.L. Dendrimers Clicked Together Divergently. Macromolecules [Internet]. 2005;38(13):5436–43. Available from: <https://pubs.acs.org/doi/10.1021/ma050302r>

17. Tron, G.C; Pirali, T; Billington, R.A; Canonico, P.L; Sorba, G; Genazzani, A.A. Click chemistry reactions in medicinal chemistry: Applications of the 1,3-dipolar cycloaddition between azides and alkynes. *Med Res Rev* [Internet]. 2008;28(2):278–308. Available from: <http://doi.wiley.com/10.1002/med.20107>
18. Ledin, P.A; Friscourt ,F; Guo, J; Boons, G.J. Convergent Assembly and Surface Modification of Multifunctional Dendrimers by Three Consecutive Click Reactions. *Chem Eur J* [Internet]. 2011 Jan 17;17(3):839–46. Available from: <http://doi.wiley.com/10.1002/chem.201002052>
19. Franc, G; Kakkar, A.K. “Click” methodologies: efficient, simple and greener routes to design dendrimers. *Chem Soc Rev* [Internet]. 2010;39(5):1536. Available from: <http://xlink.rsc.org/?DOI=b913281n>
20. Arseneault, M; Wafer, C; Morin, J-F. Recent Advances in Click Chemistry Applied to Dendrimer Synthesis. *Molecules* [Internet]. 2015 May 20 [cited 2019 May 19];20(5):9263–94. Available from: <http://www.mdpi.com/1420-3049/20/5/9263>
from: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0040402011000585>
21. Who.int. (2019). VIH/sida. [online] Available at: <https://www.who.int/es/news-room/fact-sheets/detail/hiv-aids>.
22. Haridas, V; Sharma, Y.K; Sahu, S; Verma, R.P; Sadanandan, S; Kacheshwar, B.G. Designer peptide dendrimers using click reaction. *Tetrahedron* [Internet]. 2011;67(10):187384. Available from: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0040402011000585>
23. Sousa-Herves, A; Fernandez-Megia, E; Riguera, R. Synthesis and supramolecular assembly of clicked anionic dendritic polymers into polyion complex micelles. *Chem Commun* [Internet];(27):3136. Available from: <http://xlink.rsc.org/?DOI=b805208e>
24. Weinhart, M; Gröger, D; Enders, S; Dervedde, J; Haag, R. Synthesis of Dendritic Polyglycerol Anions and Their Efficiency Toward L-Selectin Inhibition. *Biomacromolecules* [Internet]. 2011 Jul 11 [cited 2019 May 20];12(7):2502–11. Available from: <https://pubs.acs.org/doi/10.1021/bm200250f>
25. Price, C.F; Tyssen, D; Sonza, S; Davie, A; Evans, S; Lewis, G.R, et al. SPL7013 Gel (VivaGel®) Retains Potent HIV-1 and HSV-2 Inhibitory Activity following Vaginal Administration in Humans. Goepfert PA, editor. *PLoS ONE* [Internet]. 2011 Sep 15;6(9):e24095. Available from: <http://dx.plos.org/10.1371/journal.pone.0024095>
26. Starpharma. (2017). Starpharma | Successful VivaGel® Phase 3 results and NDA planned for rBV. [online] Available at: <https://starpharma.com/news/328>.
27. Hospital Universitario Gregorio Marañón. (2014). El Gregorio Marañón presenta un gel para prevenir la infección por el VIH por vía sexual. [online] Available at: http://www.madrid.org/cs/Satellite?anyo=2019&buscador=1&cid=1343065588761&dia=27&mes=4&pagename=PortalLector%2FPPage%2FPLEC_buscadorAgenda [Accessed 20 May 2019].