



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE
MÉXICO

PROGRAMA DE MAESTRÍA Y DOCTORADO EN CIENCIAS QUÍMICAS

TEMA DE TESIS

"SÍNTESIS DE DENDRÍMEROS CON MOLÉCULAS DE DERIVADOS
DE 1,4-BENZODIAZEPIN-2-ONAS EN LA PERIFERIA Y UNA
MOLÉCULA DE RESORCINARENO COMO CENTRO"

TESIS
PARA OPTAR POR EL GRADO DE
DOCTORA EN CIENCIAS

PRESENTA

M. en C. Sandra Cortez Maya



TUTOR: Dr. Marcos Martínez García AÑO: 2011

La presente Tesis se realizó en el laboratorio 6C del área de Síntesis Orgánica del Instituto de Química de la Universidad Nacional Autónoma de México; bajo la dirección del Dr. Marcos Martínez García, con el apoyo del programa de apoyo a proyectos de investigación e innovación tecnológica (PAPIIT), proyecto IN-202010. y Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT) por la beca otorgada.

AGRADECIMIENTOS:

- Agradezco infinitamente a la Universidad Nacional Autónoma de México por compartir conmigo el orgullo de ser universitario, además de brindarme la formación académica en el transcurso de estos años y permitirme el desarrollo del presente trabajo de tesis dentro de sus instalaciones, mil gracias.
- Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT), por la beca otorgada durante mi estancia doctoral. Núm. de registro: 230835 Núm. de beca: 11501.
- Quiero dar las gracias de forma especial al Dr. Marcos Martínez García, del Instituto de Química, UNAM por la asesoría y apoyo brindado en la realización de este trabajo.
- Se agradece la valiosa colaboración para la realización de las pruebas biológicas a la M. en C. Ma. Teresa Ramírez Apan y al M. en C. Antonio Nieto Camacho, del Instituto de Química, UNAM.
- Así como el soporte técnico de la M. en C. Elizabeth Huerta S., Q. Ma. De los Ángeles Peña G., M. en C. Héctor Ríos O., al M. en C. Simón Hernández O., Q.F.B Ma. del Rocío Patiño M., del Instituto de Química, UNAM.
- Un agradecimiento al Honorable jurado que revisó con paciencia esta Tesis: Dr. Sergei Fomine, Dr. Federico del Río P., Dra. Carolina Godoy A., Dr. René Miranda R., y al Dr. Alejandro Cordero V., cuyas sugerencias y contribuciones resultaron de gran utilidad.
- Finalmente un agradecimiento al personal del Posgrado en Ciencias Químicas por el servicio y apoyo brindado en estos años.

Dedicado a todas esas personas que me han acompañado y brindado su apoyo, durante la realización de éste proyecto, GRACIAS.

ARTÍCULOS PUBLICADOS:

- Cortez-Maya S., Cortes Cortes E., Hernández-Ortega S., Ramirez Apan T., Martínez-García M. Synthesis of 2-aminobenzophenone derivatives and their anti-cancer activity *Synthetic Communications* **2012**, 42, 46-54.
- Cortez-Maya Sandra, Hernández-Ortega Simón, Ramírez Apan Teresa, Irina V. Lijanova, Martínez-García Marcos. Synthesis of 5-Aryl-1,4-Benzodiazepine Derivatives Attached in Resorcinaren-PAMAM Dendrimers and their Anti-Cancer Activity *Biorganic and Med. Chem.* **2012, in press.**
- Cortez-Maya S., Cortés Cortés E., Hernández-Ortega S., Ramírez Apan T., Nieto Camacho A., Martínez-García M. Synthesis of 5-aryl-1,4-benzodiazepine derivatives and their biological activity *Anticancer research.* **2012, enviado.**

ESTE TRABAJO HA SIDO PRESENTADO EN:

- Presentación oral: Sandra Cortez Maya
"Synthesis of resorcinaren-dendrimers with derivatives of 1,4-benzodiazepin-2-one peripheral"
QUIMIUNAM, 2010. Celebrado en el auditorio "Alfonso Caso" de la Universidad Nacional Autónoma de México, noviembre del 2010.
- Presentación oral: Sandra Cortez Maya
"Síntesis de resorcinaren-dendrímeros con derivados de 1,4-benzodiazepin-2-onas en la periferia"
Simposio Interno 2010, del Instituto de Química. Celebrado en el auditorio "Lydia Rodríguez Hahn" del Instituto de Química, UNAM. Noviembre del 2010.

CONTENIDO

LISTA DE ABREVIATURAS	III
ABSTRACT.....	V
CAPÍTULO 1. INTRODUCCIÓN	1
CAPÍTULO 2.ANTECEDENTES	4
2.1 MACROCICLOS.....	5
2.1.1 <i>De la química molecular a la química supramolecular</i>	5
2.1.2 <i>Ciclodextrinas, receptores cíclicos de origen natural</i>	7
2.1.3 <i>Éteres corona</i>	8
2.1.5 <i>Ciclofanos</i>	12
2.1.6a <i>Nomenclatura de calixarenos</i>	15
2.1.7 <i>Resorcinarenos</i>	21
2.1.7a <i>Síntesis de resorcinarenos</i>	22
2.1.7b <i>Aplicaciones de resorcinarenos</i>	27
2.2 DENDRÍMEROS.....	29
2.2.1 <i>Una breve perspectiva histórica</i>	29
2.2.2 <i>Estructura de los dendrímeros</i>	33
2.2.3 <i>Términos y nomenclatura en dendrímeros</i>	36
2.2.4 <i>Síntesis química de dendrímeros</i>	38
2.2.5 <i>Recientes estrategias de síntesis</i>	42
2.2.6 <i>Resorcinaren-dendrímeros</i>	47
2.2.7 <i>Dendrímeros como liberadores de fármacos</i>	50
2.2.8 <i>Sistemas huésped-anfitrión</i>	52
2.2.9 <i>Conjugados fármaco-dendrímero</i>	56
2.3 BENZODIAZEPINAS	58
2.3.1 <i>Síntesis de benzodiazepinas</i>	59
2.3.2 <i>Aplicaciones de las benzodiazepinas y sus derivados</i>	62
CAPÍTULO 3.OBJETIVOS	64
3.1 OBJETIVO GENERAL	65
3.2 OBJETIVOS PARTICULARES	65
CAPÍTULO 4.EQUIPOS Y REACTIVOS	66
4.1.EQUIPOS	67
4.2. REACTIVOS Y DISOLVENTES.....	67
CAPÍTULO 5.DESARROLLO EXPERIMENTAL.....	69
5.1. SINTESIS DE RESORCINAREN-DENDRÍMEROS	71
5.1.1 <i>Obtención de resorcinarenos, centros dendríticos</i>	71
5.1.2 <i>Síntesis de resorcinaren-dendrímeros G 0.5</i>	73

5.1.3 Síntesis de resorcinaren-dendrímeros G 1.0	75
5.1.4 Síntesis de resorcinaren-dendrímeros G 1.5	77
5.1.5 Síntesis de resorcinaren-dendrímero G 2.0	79
5.2 Síntesis de 1,4-benzodiazepin-2-onas	81
5.2.2 Síntesis de 2-bromoacetamidobenzofenonas	87
5.2.3 Síntesis de 2-azidoacetamidobenzofenonas	91
5.2.4 Síntesis de 1,4-benzodiazepin-2-onas	94
5.2.5 Síntesis de metilacetato[1,4-benzodiazepin-2-onas]	97
5.3 CONJUGADOS DE RESORCINAREN-DENDRÍMEROS	100
CON 1,4-BENZODIAZEPINAS	100
5.3.1 Conjugados de resorcinaren-dendrímeros G 1.0 con metilacetato [1,4-benzodiazepin-2-onas]..	100
5.3.2 Conjugados de resorcinaren-dendrímeros G2.0 con metilacetato [1,4 benzodiazepin-2-onas]..	102
CAPÍTULO 6.ANÁLISIS DE RESULTADOS	106
6.1 OBTENCIÓN DE RESORCINAREN-DENDRÍMEROS.....	107
6.1.1 Obtención del núcleo o centro dendrítico	107
6.1.2 Obtención de los resorcinaren-dendrímeros G 0.5.....	111
6.1.3 Obtención de resorcinaren-dendrímeros G 1.0.....	113
6.1.4 Obtención de resorcinaren-dendrímeros G 1.5	117
6.1.5 Obtención de resorcinaren-dendrímero G 2.0	120
6.2 OBTENCIÓN DE 1,4-BENZODIAZEPIN-2-ONAS	122
6.2.1 Obtención de 2-aminobenzofenonas	124
6.2.2 Obtención de 2-bromoacetamidobenzofenonas.....	128
6.2.3 Obtención de 2-azidoacetamidobenzofenonas.....	130
6.2.4 Obtención de 1,4-benzodiazepin-2-onas	133
6.2.5 Obtención de metilacetato[1,4-benzodiazepin-2-onas].....	137
6.3 OBTENCIÓN DE LOS CONJUGADOS DE RESORCINAREN-DENDRÍMEROS CON 1,4-BENZODIAZEPINAS	139
6.3.1 Conjugados de resorcinaren-dendrímeros G 1.0 con metilacetato [1,4-benzodiazepin-2-onas]..	139
6.3.2 Conjugados de resorcinaren-dendrímeros G 2.0 con metilacetato [1,4-benzodiazepin-2-onas]..	141
7.1 Ensayos de citotoxicidad, Sulforodamina B (SRB)	146
7.1.1. Metodología para el ensayo de sulforodamina (SRB).....	147
7.1.2 Ensayo de citotoxicidad (SRB), en derivados de 2-aminobenzofenona.....	147
7.1.3 Ensayo de citotoxicidad (SRB) en las 1,4-benzodiazepinas.....	150
7.1.4 Actividad anti-inflamatoria de 1,4-benzodiazepinas	153
Edema auricular inducido por TPA.....	153
Ensayo de mieloperoxidasa (MPO)	154
7.1.5 Ensayo de citotoxicidad (SRB) en metilacetato[1,4-benzodiazepin-2-onas]	156
7.1.6 Ensayo de citotoxicidad (SRB) de los resorcinarenos y los dendrímeros de primera y segunda generación	157
7.1.7 Ensayo de citotoxicidad (SRB) de los conjugados de dendrímeros de primera y segunda generación con 1,4-benzodiazepinas.....	159
Conjugados con dendrímeros de primera generación	159
Conjugados con dendrímeros de segunda generación	161
CAPÍTULO 8.CONCLUSIONES	165
CAPITULO 9.ANEXO	169

LISTA DE ABREVIATURAS

δ : Desplazamiento químico	<i>J</i> : Constante de acoplamiento
ADP : Difosfato de adenosina	K-562 : Leucemia mieloide crónica humana
AMP : Monofosfato de adenosina	KBr : Bromuro de potasio
Ar : Aromático	m : Multiplete
ATP : Trifosfato de adenosina	MALDI : Matrix assisted laser desorption ionization
CDCl₃ : Cloroformo deuterado	MCF-7 : Cáncer de mama
CI₅₀ : Concentración Inhibitoria 50	MeOH : Metanol
CMC : Concentración micelar crítica	MPO : Mieloperoxidasa
COOH : Grupo carboxilo	NH₂ : Grupo amina
DCM : Diclorometano	nm : Nanómetros
ELISA : Enzyme-linked inmuno sorbent assay	OH : Grupo hidroxilo
EM : Espectrometría de masas	PAMAM : Poliamidoamina
EPR : Efecto de permeabilidad y retención	PC-3 : Cáncer de próstata humano
ESI : Electrospray ionization	PEG : Polietilenglicol
EtOH : Etanol	PM : Peso molecular
GABA : Ácido γ -aminobutírico	PPI : Polipropilenoimina
HCl : Ácido clorhídrico	ppm : Partes por millón
HCT-15 : Adenocarcinoma colorectal humano	RMN ¹³C : Resonancia magnética nuclear de carbono 13
IR : Espectroscopia de infrarrojo	RMN ¹H : Resonancia magnética nuclear de protón
IUPAC : International Union of Pure and Applied Chemistry	

s: Singulete

sa: Señal ancha

SKLU-1: Adenocarcinoma pulmonar humano

SNC: Sistema nervioso central

SRB: Sulforodamina B

THF: Tetrahidrofurano

TOF: Time of flight

U-251: Glía de sistema nervioso central

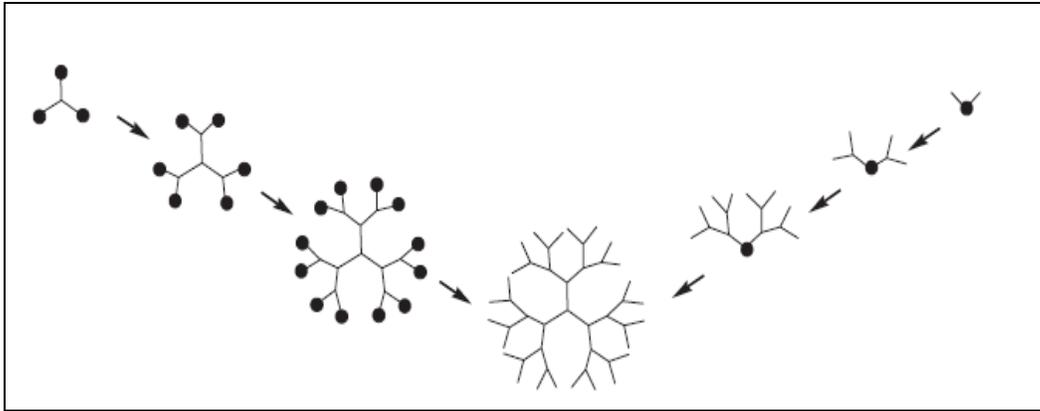
Uv-vis: Ultravioleta-visible

VIH: Virus de Inmunodeficiencia Humana

ABSTRACT

Dendrimers are highly branched three-dimensional macromolecules with highly controlled structures, a single molecular weight, a large number of controllable "peripheral" functionalities and a tendency to adopt a globular shape once a certain size is reached. These features have made their application in pharmaceutical and medicinal chemistry particularly attractive.

A series of resorcinaren-PAMAM dendrimers with benzodiazepines in the periphery were synthesized and their anticancer properties studied. The synthesized dendrimers showed potential anticancer activities, which were enhanced in the presence of a chloro-substituent in the second ring of the 5-aryl-1,4-benzodiazepine. The dendrimers were characterized by IR, ^1H and ^{13}C NMR, UV–VIS absorption, electrospray (ES) and/or MALDI-TOF mass spectrometries



CAPÍTULO 1

INTRODUCCIÓN

INTRODUCCIÓN

Debido a la amplia gama de actividades biológicas mostradas por los compuestos derivados de las benzodiazepinas, es que su grupo farmacofórico ó estructura química central, se considera entre las estructuras de gran interés para la construcción de nuevos fármacos. En particular el grupo de las 5-aril-1,4-benzodiazepinas, tal como el Valium, cuya estructura química es recurrente en fármacos usados principalmente en el tratamiento de enfermedades relacionadas con el sistema nervioso central (SNC) como ansiolíticos, hipnóticos, anti-convulsivos, sedantes menores, y en años recientes han sido usados en el tratamiento de enfermedades no relacionadas al SNC como lupus eritomatoso sistémico, agentes anti-VIH, agentes anti-arritmicos, y en ensayos en el tratamiento de cáncer.

Por otra parte, se ha reportado el empleo de dendrímeros en el diagnóstico y tratamiento de cáncer, que involucra el uso de dendrímeros como acarreadores o liberadores de un agente de contraste para el diagnóstico de células cancerígenas o bien como acarreadores del fármaco usado en el tratamiento, ya que se ha demostrado su afinidad a células cancerígenas.

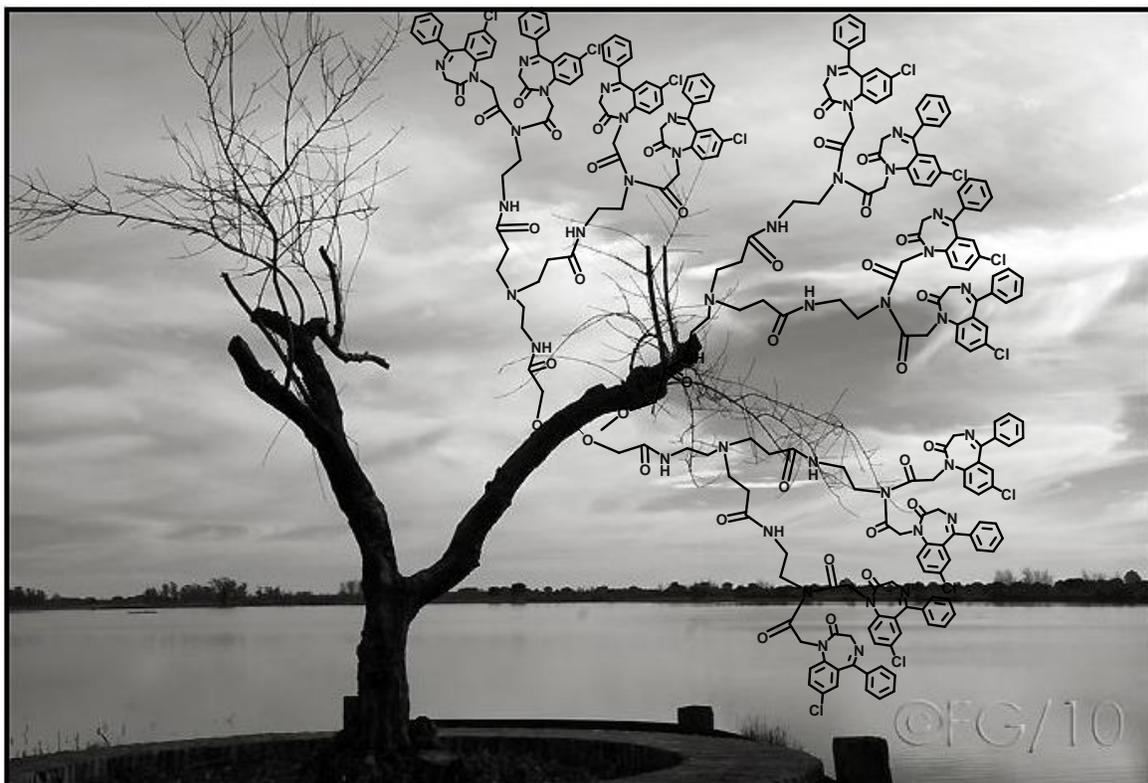
Los dendrímeros ofrecen ventajas que incluyen un bajo índice de polidispersidad, múltiples sitios de unión, estructura y tamaño bien definidos, que pueden ser fácilmente modificables para cambiar las propiedades químicas del sistema. Además las macromoléculas dendríticas tienen un aumento de permeabilidad y efecto de retención que les permite dirigirse a las células del tumor con mayor eficacia que las células pequeñas, lo que las hace excelentes candidatas para la evaluación como acarreadoras de fármacos. La unión covalente del fármaco en la superficie del dendrímero a través de enlaces biodegradables o hidrolizables ofrece la oportunidad de tener un gran control en la liberación del fármaco comparado con la formación de complejos mediante fuerzas electrostáticas.

En el presente trabajo se realizó el diseño, la síntesis y la caracterización de macromoléculas dendríticas que contienen en su periferia 1,4-benzodiazepinas unidas covalentemente mediante enlaces amida, como modelo de acarreador de fármacos con especificidad a células cancerígenas. La síntesis de los dendrímeros se realizó mediante

el método divergente, iniciando con la obtención de los resorcinarenos que fueron usados como núcleo o centro dendrítico, seguida de la síntesis de los brazos dendríticos mediante una *O*-alquilación y una amonólisis para la obtención de los dendrímeros de primera generación, los cuales fueron sometidos a una reacción tipo Michael y nuevamente a una amonólisis para la obtención de los dendrímeros de segunda generación.

Después de la obtención de los resorcinaren-dendrímeros de primera y segunda generación se realizó la síntesis de los derivados 1,4-benzodiazepicos a través de una ciclación intramolecular tipo Wittig a partir de derivados de 2-aminobenzofenona. Finalmente se realizó la síntesis de los conjugados dendrímero-1,4-benzodiazepina a través de la formación de enlaces amida. Los conjugados formados con los dendrímeros de primera generación son capaces de tener en su periferia 16 moléculas de 1,4-benzodiazepinas, mientras que los de segunda generación tienen 32 moléculas del fármaco.

En la segunda parte del trabajo se describen los estudios *in vitro* de la actividad anticancerígena de los compuestos sintetizados mediante el ensayo de sulforodamina B (SRB), en donde los derivados de 2-aminobenzofenona presentaron un alto porcentaje de inhibición de crecimiento en las líneas celulares de cáncer humano, especialmente el compuesto 2-amino-2',5-diclorobenzofenona. Por otra parte, también se observó que la formación del anillo 1,4-benzodiazepínico disminuye notablemente la actividad anticancerígena, pero al formar los conjugados dendrímero-1,4-benzodiazepina con los dendrímeros de primera generación se presenta un efecto sinérgico entre estos dos tipos de compuestos.



CAPÍTULO 2

ANTECEDENTES

2.1 MACROCICLOS

2.1.1 De la química molecular a la química supramolecular

Desde la síntesis de la urea, por Friedrich Wöhler en 1828¹ la química molecular ha desarrollado una amplia gama de sofisticados y poderosos métodos para la síntesis de moléculas con estructuras cada vez más complejas, mediante la formación o ruptura de enlaces covalentes de forma controlada y precisa, integrando estrategias que logran una gran eficiencia y selectividad, es decir la química ha establecido su poder sobre el enlace covalent². Mediante estrategias de síntesis bien determinadas se han obtenido moléculas de gran complejidad, estas moléculas o macromoléculas pueden ser de cadena abierta o cíclica, estas últimas también reciben el nombre de macrociclos. Los macrociclos, definido por la IUPAC; contienen un anillo de al menos 9 átomos y en su estructura hay por lo menos tres o más átomos electrodonadores, brindándoles la capacidad de hospedar moléculas de menor tamaño³.

La síntesis e investigación de las propiedades de los macrociclos como moléculas hospederas; dio origen a una nueva rama de la química: la "Química Supramolecular". El concepto y término de química supramolecular fue introducido en 1978 por J.-M. Lehn⁴ quien frecuentemente la etiqueta como la "química más allá de la molécula"; en la que entidades de mayor complejidad resultan de la unión de dos o más especies químicas unidas a través de fuerzas intermoleculares⁵, estas interacciones pueden ser tipo van der Waals, interacciones electrostáticas, puentes de hidrógeno, interacciones CH- π , π - π , n- π , etc.

En comparación con los enlaces covalentes las interacciones intermoleculares son débiles, comparados con los enlaces covalentes; por lo tanto las especies supramoleculares son termodinámicamente menos estables, cinéticamente más lábiles, y dinámicamente más flexibles. Sin embargo; analizando algunos sistemas biológicos

¹ F. Wöhler, *Poggendorfs Ann. Physik.* **1828**, 12, 253.

² J. M. Lehn. *Supramolecular Chemistry, Concepts and perspectives.* VCH, Weinheim, **1995**.

³ <http://old.iupac.org/publications/books/author/metanomski.html>

⁴ J. M. Lehn, *Pure Appl. Chem.* **1978**, 50, 871.

⁵ R. Barthes, *Leçon Inaugurale*, Collège de France, **1977**, 9.

vemos que varios procesos fundamentales como la replicación del ADN, interacciones antígeno-anticuerpo, reacciones enzimáticas, así como el ensamble de complejos multiproteínicos, se realizan con asombrosa eficiencia debido a una acción bien organizada de las fuerzas intermoleculares entre sólo dos moléculas⁶. De hecho los orígenes de la química supramolecular están fuertemente ligados con la química del reconocimiento molecular, que investiga cómo las moléculas hospedan y reconocen a otras, así como la asociación entre ellas. El principal concepto asociado con el reconocimiento molecular es el de "llave-cerradura", propuesto por Emil Fisher⁷, en el que propone que bajo este principio las enzimas reconocen a su sustrato. En química supramolecular los componentes de una supermolécula han sido nombrados receptor o anfitrión (host) que es el componente que se emplea para reconocer una especie blanco y el huésped (guest) o sustrato⁸, que es la especie blanco. Con frecuencia, el receptor es una molécula grande que posee una cavidad o una grieta capaz de incorporar de forma selectiva a iones o sustratos moleculares (o ambos) por medio de varias interacciones intermoleculares.

Por otra parte el diseño y síntesis de moléculas anfitrionas requiere de la adecuada manipulación de parámetros energéticos y estereoquímicos que permitan las interacciones intermoleculares, esto permite construir macromoléculas nuevas y con propiedades fisicoquímicas muy diferentes e interesantes. Bajo estos requisitos se han sintetizado diferentes macromoléculas cíclicas para ser empleadas como receptores moleculares entre las que podemos mencionar a las ciclodextrinas⁹, éteres corona¹⁰, criptandos¹¹, esferandos¹², ciclofanos¹³, calixarenos¹⁴, resorcinarenos¹⁵, etc. Todas estas

⁶ D. Voet, G. J. Voet, *Biochemistry*, 3rd. Edition, John Wiley & Sons Inc. **2004**.

⁷ a) F. W. Lichtenthaler, *Angew. Chem. Int. Ed.* **1994**, 33, 2364. b) D. E. Koshland, *Angew. Chem. Int. Ed.* **1994**, 33, 2375.

⁸ a) J. M. Lehn, *Struct. Bonding*, **1973**, 16, 1; b) J. M. Lehn, J. Simon, J. Wagner, *Angew. Chem.* 1973, 85, 621.

⁹ R. Cao, A. Frago, E. Almirall, R. Villalonga, *The supramolecular Chemistry of Cyclodextrins in Cuba. Supramolecular Chemistry.* **2003**, 15, 161.

¹⁰ a) C. J. Pedersen, *J. Am. Chem. Soc.* **1967**, 89, 7017; b) C. J. Pedersen, *Angew. Chem.*, **1988**, 100, 1053; *Angew. Chem. Int. Ed. England.* **1988**, 27, 1053.

¹¹ a) B. Dietrich, J. M. Lehn, J. P. Sauvage, *Tetrahedron Lett.* **1969**, 10, 2885; b) B. Dietrich, J. M. Lehn, J. P. Sauvage, *Tetrahedron Lett.* **1973**, 29, 1629.

¹² a) D. J. Cram, *Angew. Chem.*, **1986**, 98, 1041; *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1986**, 25, 1039; b) D. J. Cram, *Angew. Chem.* **1988**, 100, 1041; *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1988**, 27, 1009.

familias de compuestos se caracterizan por su versatilidad para formar complejos con cationes metálicos por medio de enlaces de coordinación o con moléculas orgánicas para formar complejos supramoleculares.

Han sido estudiados receptores moleculares de una gran variedad estructural, muchos de ellos del tipo macro policíclico. Su diseño ha sido con el objetivo de tener un control estructural a través de una organización planeada, el cual se incrementa con el orden cíclico de la estructura y depende de la naturaleza de los fragmentos que esta contiene.

2.1.2 Ciclodextrinas, receptores cíclicos de origen natural

Para algunas macromoléculas cíclicas de origen natural fueron descubiertas sus capacidades como receptores moleculares, mucho antes que los éteres corona (primeros receptores artificiales), tal es el caso de las ciclodextrinas¹⁶ (oligosácaridos cíclicos). Las ciclodextrinas se pueden obtener a través del almidón por tratamiento enzimático, también llamadas cicloamilosas. Son oligómeros cíclicos de 5 o más unidades de α -D-glucopiranosas unidas a través de las posiciones 1 \rightarrow 4. Los oligómeros más empleados son los de 6, 7 y 8 unidades llamadas α -, β - y γ -ciclodextrinas respectivamente, figura 1.

Las ciclodextrinas se disuelven en medios acuosos y pueden alojar moléculas hidrofóbicas (aromáticos y alifáticos), de tal manera que el fragmento hidrofóbico del huésped entra en la cavidad del anfitrión, típicamente por el lado más ancho del cono, y los grupos polares conservan su contacto con agua¹⁷. La formación de complejos de inclusión con ciclodextrinas ocurre principalmente por interacción hidrofóbica, pero también hay contribuciones de las interacciones de van der Waals. En acuerdo con esto, la estabilidad de los complejos depende del tamaño de superficie de contacto, que a su vez depende de la complementariedad entre el huésped y la cavidad del anfitrión¹⁸.

¹³ F. Vögtle, P. Neumann; *Tetrahedron*, **1970**, 26, 5847.

¹⁴ B. Volker, *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1992**, 34, 713.

¹⁵ B. Botta, M. Cassani, I. D'Acquarica, D. Misiti, D. Subissati, G. D. Monache, *Current Organic Chemistry*, **2005**, 9, 337.

¹⁶ K. Ariga, T. Kunitake. *Supramolecular Chemistry, Fundamentals and Applications*. Advanced Textbook. Springer-Verlag Heidelberg., Alemania, **2006**.

¹⁷ a) K. A. Connors, *Chem. Rev.* **1997**, 97, 1325; b) J. Szejtli, *Chem. Rev.*, **1998**, 98, 1743.

¹⁸ a) M. V. Rekharsky, Y. Inoue, *Chem. Rev.* **1998**, 98, 1875; b) A. Ueno, T. Kuwabara, A. Nakamura, F. Toda, *Nature*, **1992**, 356, 136.

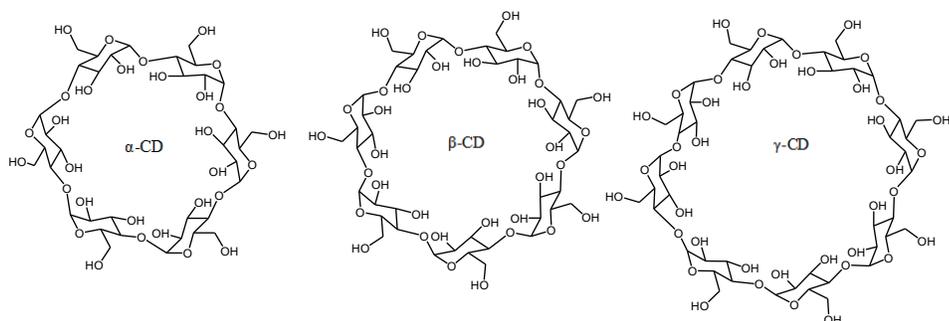


Figura 1 .Estructura general de las α , β , γ -ciclodextrinas (CD)

2.1.3 Éteres corona

En los años sesenta Charles J. Pedersen^{7a} reportó la síntesis de una serie de macrocíclicos llamados éteres corona, que tienen la capacidad de funcionar como ionóforos para cationes de metales alcalinos, siendo las primeras moléculas usadas como receptores artificiales. Se denominan "éteres" porque contienen los enlaces $-C-O-C-$ y "corona" porque los átomos se ubican entre sí de una forma zigzagueante y pueden asentarse sobre el ión metálico como una corona sobre la cabeza del monarca. En la inmensa mayoría, los éteres corona no se asientan sobre el ión metálico, sino que este último queda incluido dentro de la cavidad bidimensional. Pedersen preparó más de 60 compuestos para determinar el tamaño de ciclo y la disposición constitucional óptima de los diferentes átomos en los macrociclos de cara a la complejación selectiva de un elevado número de cationes. Los compuestos idóneos poseían entre cinco y diez átomos de oxígeno, cada uno separado de los vecinos por dos carbonos puente¹¹. Su publicación en 1967 dio lugar al inicio de la química de los éteres corona y compuestos análogos. Algunos ejemplos de los macrociclos sintetizados por Pedersen se muestran en la figura 2, los cuales tienen átomos de oxígeno con cargas parciales negativas, capaces de realizar interacciones ión-dipolo con cationes metálicos, y la periferia hidrofóbica formada por los grupos etilénicos¹⁹.

La sustitución de uno o más átomos de oxígeno en el éter corona con átomos de nitrógeno (el receptor así obtenido se llama aza-corona) modifica de manera importante las propiedades químicas del receptor. El átomo de nitrógeno, tal como el de oxígeno,

¹⁹C. J. Pedersen, H. K. *Angew. Chem. Int. Ed.* **1972**, 11, 168.

tiene un par de electrones no compartidos y aún mayor basicidad, pero más importante es el hecho de que a este átomo es posible añadir un grupo donador adicional que permite obtener dos nuevos grupos de receptores llamados éteres lariat²⁰ y criptandos¹¹.

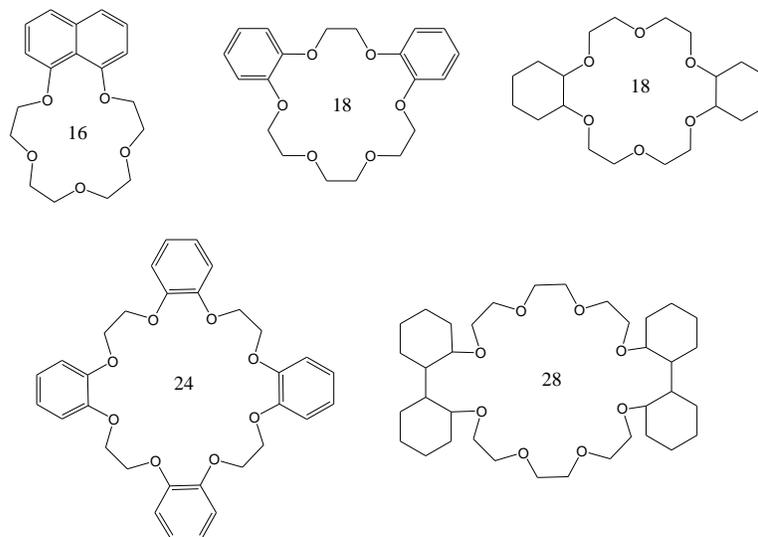


Figura 2. Algunos ejemplos de éteres corona, sintetizados por Pedersen

A partir de la definición aportada anteriormente, los compuestos corona se pueden clasificar de forma sencilla de acuerdo con el tipo de anillo o cadena que conforman su estructura en:

Coronandos: compuestos monocíclicos como los éteres corona, aza y tio éteres corona²¹.

Criptandos: compuestos multicíclicos con átomos de nitrógeno como cabeza de puente.

El reemplazamiento de los átomos de oxígeno en los éteres corona por átomos de nitrógeno permite la obtención de un nuevo grupo de receptores cíclicos, llamados poliaminas macrocíclicas²², su naturaleza es análoga a los éteres corona pero de una mayor basicidad debido a la naturaleza del nitrógeno.

La protonación de las aminas hace a estos receptores capaces de unirse a aniones, por ejemplo, algunas poliaminas macrocíclicas tienen formas elípticas, y son capaces de reconocer eficientemente aniones lineales tales como el anion azida (N_3^-). Poliaminas

²⁰ G. W. Gokel, J. E. Trafton, *Chem. Soc. Rev.* **1992**, 21, 39.

²¹ S. R. Cooper, *Acc. Chem. Res.* **1998**, 21, 141.

²² M. W. Hossaini, J.-M. Lehn, L. Maggiora, K. B. Mertes, M. P. Mertes, *J. Am. Chem. Soc.* **1987**, 109, 537.

macrocíclicas con cadenas alquílicas hidrofóbicas pueden ser immobilizadas en la superficie de un electrodo para crear un dispositivo detector de aniones, mediante un cambio de potencial de la superficie²³.

2.1.4 Criptandos

Basándose en los trabajos de Pedersen sobre éteres corona y en la síntesis de diaminas macrobíclicas de Simmons y Park, Jean Marie Lehn sintetizó los macrociclos denominados criptandos¹¹ que constan de oxígeno y nitrógeno como átomos donadores. Sus anillos son mayores que los éteres corona, además de que son más rígidos, debido a la existencia de un ciclo adicional, véase figura 3. Estos ligandos tienen la capacidad de encapsular cationes metálicos en huecos esféricos formando complejos muy estables, además de ser solubles en la mayoría de los disolventes comunes y obtenerse mediante una ruta de síntesis sencilla.

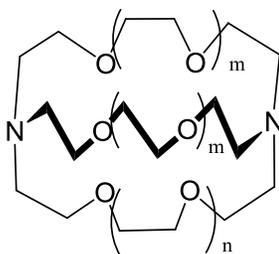


Figura 3. Estructura general de los criptandos

El criptando representado en la figura 3, varía su selectividad atendiendo a la dimensión de la cavidad, esto es, a los valores de "n" y "m".

Para $m = 0$ y $n = 1$ es muy selectivo para el Li^+ .

Para $m = 1$ y $n = 0$ es muy selectivo para el Na^+ .

Para $m = 1$ y $n = 1$ es muy selectivo para el K^+ , con una mayor estabilidad que en los éteres corona.

Estos ligandos tienen una excelente selectividad, ya que son capaces de discriminar a los cationes que sean más pequeños o más grandes que su cavidad.

²³ C. M. Carey, W. B. Riggan, *Anal. Chem.* **1994**, 66, 3587.

Los criptatos protonados²⁴ son obtenidos mediante la protonación interna, la cavidad oculta los protones muy eficientemente, tal como se muestra en las dos formas protonadas (a) y (b) de un criptando pequeño con m y n=0; figura 4. Por otra parte los criptandos se unen muy fuertemente a cationes alcalinotérreos, en especial el criptando con m y n=1, tiene una alta preferencia por los cationes Sr²⁺, Ba²⁺ y Ca²⁺, también se han obtenido criptatos lantánicos²⁵ con propiedades fotofísicas.

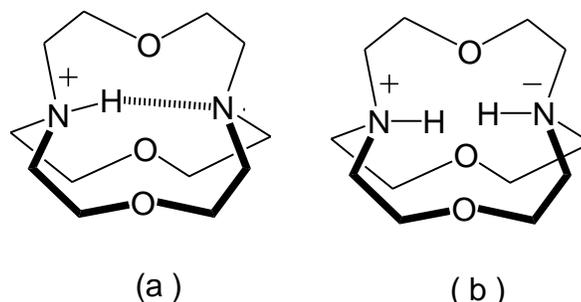


Figura 4. Criptatos protonados, con m y n=0

A mediados de los años 70 Donald J. Cram estudió la resolución de mezclas racémicas de alquilaminas primarias y aminoácidos a partir de éteres corona racémicos, ampliando la síntesis innovadora de Pedersen, obteniendo éteres corona básicamente de tres dimensiones que son capaces de reconocer y combinarse de forma selectiva con otros compuestos debido a sus estructuras tridimensionales complementarias.

Los descubrimientos de Pedersen, Lehn y Cram dieron el enfoque químico, hacia el estudio de los enlaces débiles no covalentes tanto en medios biológicos como abióticos. Supuso el inicio de la química anfitrión-huésped, reconocimiento molecular o Química Supramolecular, de moléculas que podían mimetizar los procesos biológicos, por lo que fueron galardonados en 1987 con el premio Nobel de química²⁶.

²⁴ a) J. Cheney, J. M. Lehn, *J. Chem. Soc. Chem. Commun.* **1972**, 487; b) P. B. Smith, J. L. Dye, J. Cheney, J. M. Lehn, *J. Am. Chem. Soc.* **1981**, 103, 6044; c) H. J. Brüggel, D. Carboo, K. von Deuten, A. Knöchel, J. Kopf, W. Dreissing, *J. Am. Chem. Soc.* **1986**, 108, 107.

²⁵ a) J. C. Bünzli, D. Wessner, *Coord. Chem. Rev.* **1984**, 60, 191; b) J. C. Bünzli, in *Handbook on the Physics and Chemistry of Rare Earths*, (Eds.: K. A. Gschneider, Jr., L. Eyring), Elsevier Amsterdam, **1987**, 60, 321.

²⁶ http://nobelprize.org/nobel_prizes/chemistry/laureates/1987/index.html

2.1.5 Ciclofanos

Los ciclofanos constituyen otra familia de receptores para moléculas orgánicas, son macrociclos con fragmentos aromáticos enlazados por lo menos por un puente alifático de n -miembros ($n \geq 0$). De acuerdo a la nomenclatura Vögtle y Neumann¹³ dos conjuntos de números preceden al nombre que lleva como sufijo *fano*: el número en corchetes en el nombre indica la longitud o longitudes de los puentes, comenzando por el más pequeño. Cuando se encuentran sustituyentes en los anillos aromáticos, éstos se ponen entre paréntesis. Para ciclos multiramificados, el número de puentes que sean iguales puede ser indicado por un subíndice que indica el número de átomos de carbono que estos contienen²⁷. Otra forma en la que los ciclofanos han sido clasificados, es de acuerdo a la ubicación de las cadenas puente con respecto al anillo aromático; así tenemos a los *p*-ciclofanos, *m*-ciclofanos y *o*-ciclofanos; véase figura 5. Debido a la alta polarizabilidad de los fragmentos aromáticos estos anfitriones enlazan huéspedes principalmente mediante interacciones de van der Waals con una contribución de interacciones hidrofóbicas en medios acuosos.

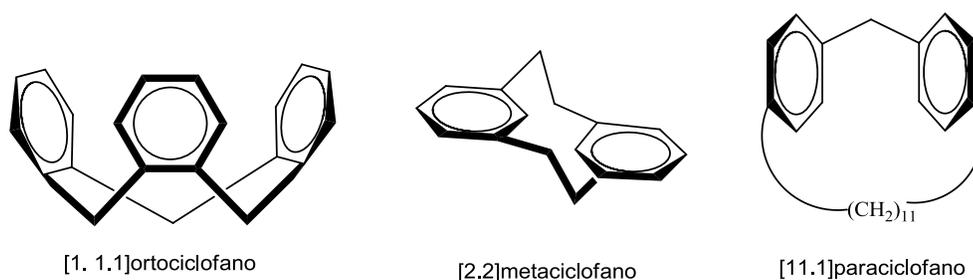


Figura 5. Estructuras de *o*-, *m*-, *p*- ciclofanos

Otro tipo de ciclofanos, son aquellos en los cuales el anillo aromático no está constituido en su totalidad por carbono e hidrógeno, sino que pueden tener uno o más heteroátomos como el oxígeno, nitrógeno o azufre. Entre estos compuestos se pueden mencionar a los tiofenanos²⁸, purinofanos²⁹, flavinonanos³⁰, piridinofanos³¹,

²⁷ F. Diederich, *Cyclophanes, Monographs in Supramolecular Chemistry, Royal Society of Chemistry, 1991.*

²⁸ I. Yoshihiko, M. Satoru, N. Masashi, S. Tadeo, *J. Org. Chem.* **1981**, 46, 1043.

²⁹ a) F. Hama, Y. Sayata, S. Misumi, M. Aida, C. Nagata, *Tetrahedron Lett.* **1982**, 23, 3061; b) K. Akahori, F. Hama, Y. Sakata, S. Misumi. *Tetrahedron Lett.* **1984**, 25, 2379.

porfirinofanos³², entre otros, ver figura 6. Por otra parte los ciclofanos policíclicos tienen una semejanza aparente con criptandos y son conocidos como criptofanos o “envases” moleculares. Estos receptores enlazan fuertemente moléculas y cationes orgánicos del tamaño complementario formando clatratos moleculares.

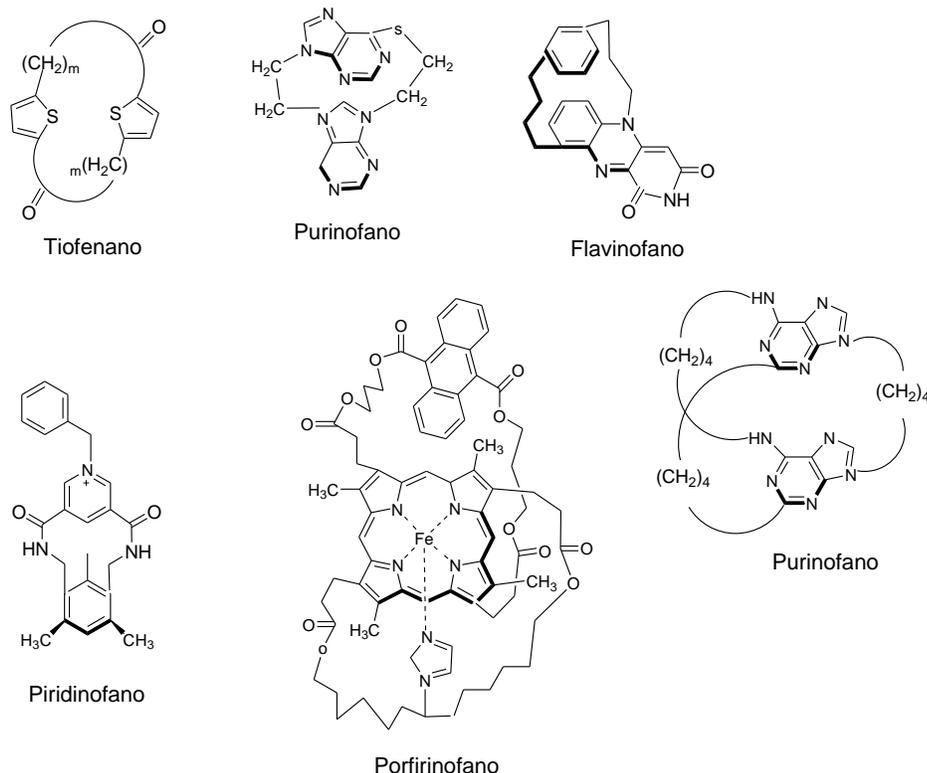


Figura 6. Ejemplos de ciclofanos con heteroátomos

Los ciclofanos por su estructura formada de anillos aromáticos unidos por carbonos alifáticos, pertenecen a una clase de receptores moleculares, los cuales se obtienen de manera sintética. Algunos ciclofanos pueden adoptar una arquitectura especial como una cavidad o espacio interior donde se pueden hospedar moléculas de menor tamaño. Esta familia, la cual presenta una cavidad en su estructura, es conocida como la de los metaciclofanos o calixarenos.

³⁰ a) M. F. Zippies, C. Krieger, H. A. Staab. *Tetrahedron Lett.* **1983**, 24, 1925; b) M. F. Zippies, H. A. Staab. *Tetrahedron Lett.* **1984**, 25, 1053.

³¹ F. Rob, H. J. van Ramesdonk, W. van Gerresheim, P. Bosma, J. J. Schele, J. W. Verhoeven, *J. Am. Chem. Soc.* **1984**, 106, 3826.

³² a) J. E Baldwin, P. Perlmutter, *Top. Curr. Chem.* **1984**, 121, 181; b) I. Sutherland, in "Cyclophanos", eds. P. M. Keehn, S. M. Rosenfeld, Academic Press, New York, **1983**, Vol. 2; c) M. F. Perutz, *Ann. Rev. Biochem.* **1979**, 48, 327; d) M. Momenteau, *Pure Appl. Chem.* **1986**, 58, 1493.

2.1.6 Calixarenos

Los calixarenos son $[1_n]$ metaciclofanos que se obtienen de la condensación de fenoles y formaldehído en diferentes condiciones. Como tales, se conocen desde hace mucho tiempo³³ pero es en los años setenta cuando se establecen firmemente sus estructuras tanto en disolución³⁴ como en estado sólido³⁵, lo que aumentó su popularidad en el área de química supramolecular. Adquirieron su nombre debido a la semejanza de la conformación del macrociclo a un cáliz, término que fue introducido por Gutsche²⁸ y se deriva del latín "*calix*" que significa "tazón o vaso", debido a la forma que asumen cuando todos los anillos aromáticos se orientan en la misma dirección, figura 7. Esta conformación es llamada *cono* y es usualmente observada en el estado sólido. El nombre fue elegido inicialmente para nombrar específicamente a los oligómeros cíclicos derivados del fenol, pero subsecuentemente ha tomado un aspecto más genérico y se aplica ahora a una gran variedad de compuestos estructuralmente relacionados.



Figura 7. Comparación de la forma de un calixareno con una copa griega

³³ a) A. Zinke, E. Ziegler, *Ber.* 74B, **1941**, 205; b) J. W. Conforth, P. Darcy, G. A. Nicholis, J. A. Stock, *Brit. J. Pharmacol.*, **1995**, 10, 73; c) J. W. Conforth, E. D. Morgan, K. T. Potts, R. J. W. Rees, *Tetrahedron*, **1979**, 29, 1659.

³⁴ C. D. Gutsche, R. Muthukrishan, *J. Org. Chem.* **1978**, 43, 4905.

³⁵ G. D. Andreetti, R. Ungaro, A. Pochini, *J. Chem. Soc., Chem. Commun.* **1979**, 1005.

La familia de los calixarenos fue dividida en tres grandes grupos:

calixarenos de tipo 1: son todos aquellos 1_n -metaciclofanos que contengan la fórmula general descrita en la figura 8, en su estructura no contienen ningún grupo funcional³⁶.

calixarenos de tipo 2: este grupo de compuestos está formado por los derivados ciclooligoméricos del fenol (calixarenos originales)³⁷.

calixarenos de tipo 3: este tipo comprende a los tetrámeros derivados del resorcinol (1,3-dihidroxibenceno), véase figura 8. Los cuales también reciben el nombre de resorcinarenos³⁸, resorcarenos, resorcín[4]arenos, y calixresorc[4]arenos. Ya que los resorcinarenos son objeto del presente trabajo de investigación, se profundizará más sobre esta familia de compuestos en la sección 2.1.7.

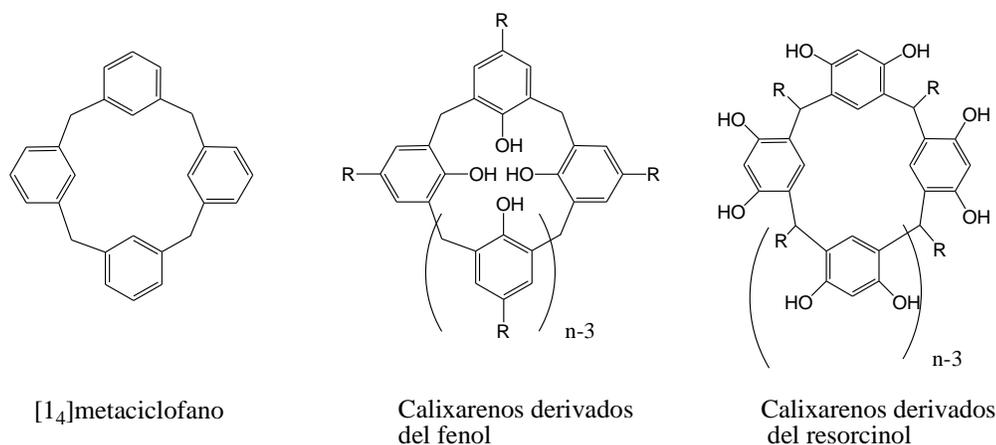


Figura 8. Estructuras de la familia de calixarenos

2.1.6a Nomenclatura de calixarenos

La nomenclatura original de los calixarenos incluía los grupos OH como parte del nombre de la estructura, sin embargo a medida que el área ha proliferado, esta presunción no parece justificada, y el término "calixareno" es aplicado solamente a las estructuras básicas sin sustituyentes, como se ilustra en la figura 9 para el tetrámero cíclico, dihomooxatetrámero, hexámero cíclico y el octámero cíclico derivado del fenol *p*-sustituido y formaldehído, en donde la nomenclatura de los compuestos es expresada por

³⁶ L. Mandolini, R. Ungaro, *Calixarenes in Action*, Imperial Collage Press, London, **2000**.

³⁷ D. J. Cram, J. M. Cram, *Container Molecules and their Guest in Monographs in Supramolecular Chemistry*; J. F. Stoddart, Royal Society of Chemistry: Cambridge; **1994**.

³⁸ P. Timmerman, W. Verboom, D. N. Reinhoudt, *Tetrahedron*, **1996**, 52, 2663.

un número entre corchetes que se encuentra entre las palabras calix y areno, el cual indica el número de anillos aromáticos que forman el macrociclo. Aparte de la nomenclatura hay dos principales diferencias entre los derivados ciclooligoméricos de fenol y resorcinol, la primera está relacionada a la síntesis y la segunda se relaciona con la orientación de los grupos OH con respecto al anillo del macrociclo. De hecho los calix[n]arenos son obtenidos usualmente vía catálisis básica de la condensación de *p*-alquil-fenoles y formaldehído y sus grupos OH están dirigidos hacia el interior del anillo del macrociclo (calixarenos *endo*-OH); mientras los resorcinarenos son preparados vía catálisis ácida de la condensación del resorcinol y aldehídos, y son calixarenos *exo*-OH ya que están orientados lejos del anillo.

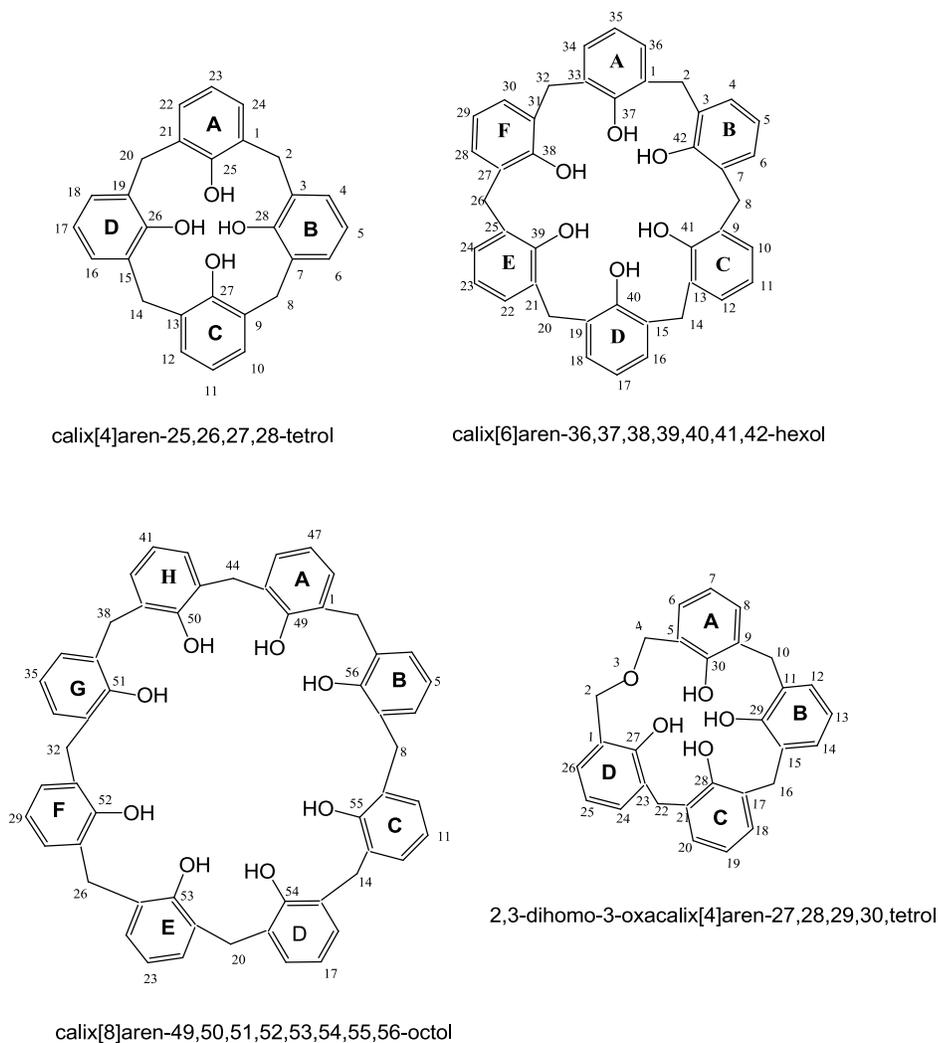


Figura 9. Nomenclatura de calixarenos

Dos regiones pueden ser distinguidas en los calixarenos, véase figura 10. La región de los grupos OH del fenol y la región de los sustituyentes en posición *para* del anillo aromático, los cuales son llamadas respectivamente "borde inferior" y "borde superior" del cáliz. En los calix[4]arenos los núcleos adyacentes han sido nombrados "proximal" o (1, 2); mientras que los opuestos son nombrados "distal" o "diametral", posiciones (1, 3). Los calixarenos desprotonados son capaces de unirse a cationes de metales alcalinos en el borde inferior, y pueden actuar como acarreadores, transportando ese sustrato u hospedero a través de un sistema de membranas.

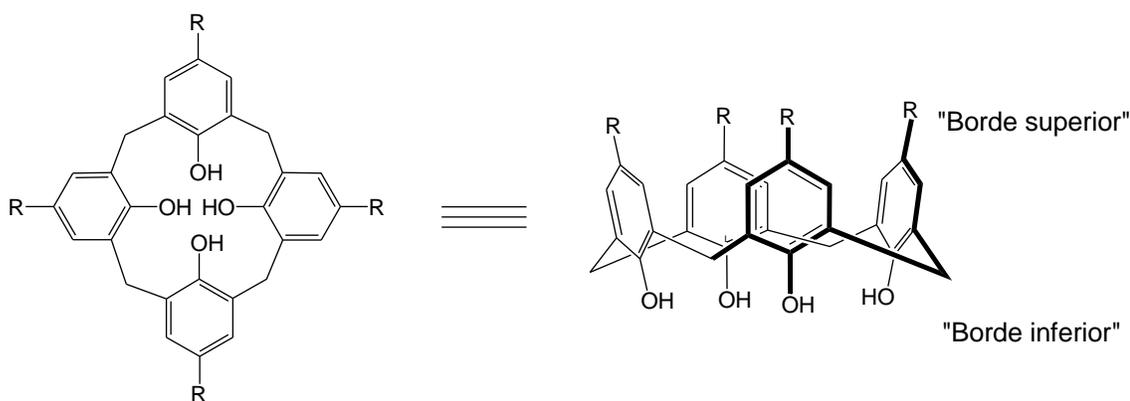


Figura 10. Los dos formas de calix[4]arenos

Los calix[4]arenos pueden adoptar cuatro conformaciones como, cono parcial, 1,2-alterno y 1,3-alterno, figura 11. La conformación de cono es particularmente útil, debido a que esta conformación en forma de "cubo" es un atractivo soporte tridimensional del cual se pueden unir diferentes sustratos. Los sustratos pueden ser unidos en el borde inferior del anillo o en el borde superior, después de remover el grupo $-R$, del calixareno.

Por ejemplo, los grupos éster pueden ser unidos en el borde inferior del *p*-terbutilcalix[4]areno **1**, obteniéndose el tetraéster con conformación de cono. Los datos espectroscópicos de UV mostraron que éste es un receptor selectivo para cationes de sodio, con respecto a sustratos catiónicos del grupo I. El sodio se coordina con los ocho átomos de oxígeno en el borde inferior del anillo del calixareno, figura 12a.

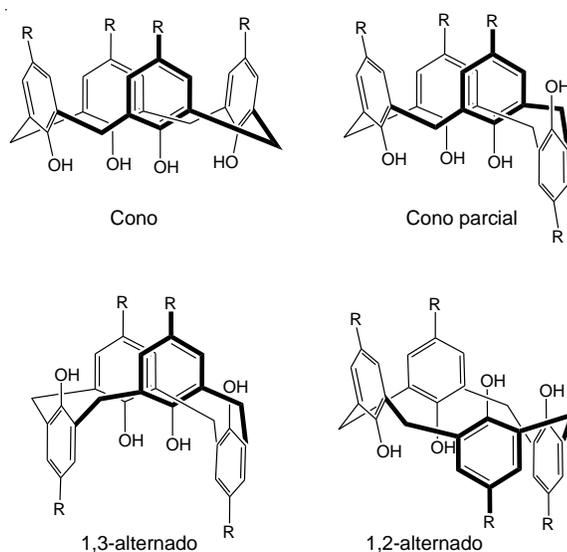


Figura 11. Conformación adoptada por los calix[4]arenos

La cavidad aromática de los calixarenos es también capaz de coordinarse a iones metálicos, lo cual posiblemente se deba a las interacciones electrostáticas entre el catión deficiente en electrones y el anillo aromático rico en electrones³⁹. Un ejemplo es el catión incluido en la cavidad del *p*-terbutilcalix[4]areno **1**, figura 12b en el que el catión de cesio es mantenido en la cavidad por interacciones catión- π .

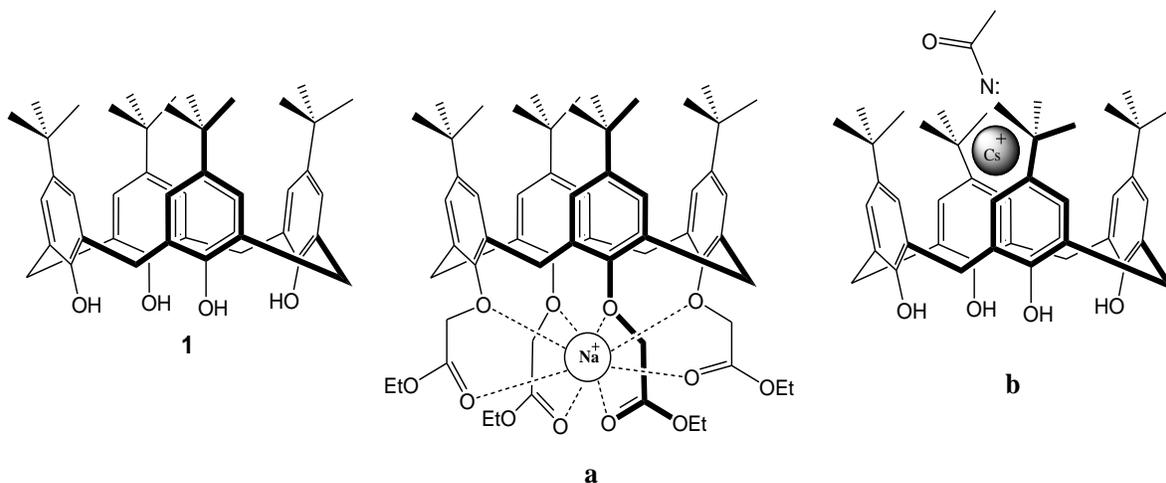
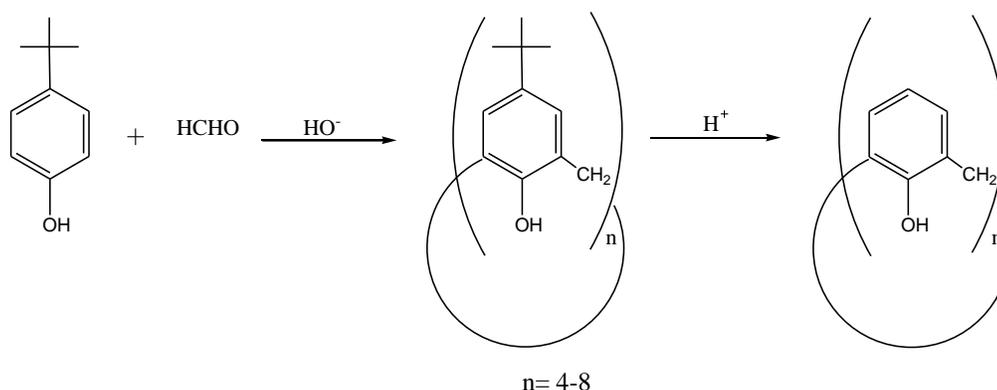


Figura 12. Estructura del *p*-terbutilcalix[4]areno **1**; 12a. Coordinación con Na^+ ; 12b. Coordinación con Cs^+

³⁹ P. D. Beer, P. A. Gale, D. K. Smith, *Supramolecular Chemistry*, Oxford Chemistry Primers, New York, **1999**.

2.1.6b Síntesis de calixarenos

Aunque con el transcurso de los años se han desarrollado varios métodos de síntesis para los calixarenos, el método general es realizado en un solo paso, por la condensación de fenoles *para*-sustituídos y formaldehído, en medio básico. Con algunas variaciones este método ha dado buenos rendimientos para productos cíclicos pares ($n= 4, 6, 8$), especialmente con fenoles que contienen en su estructura química sustituyentes voluminosos, como el *ter*-butilo⁴⁰, oxibencilo⁴¹, y adamantil⁴², en posición *para*. En el caso de calixarenos impares ($n=5, 7, 9$) pueden ser obtenidos también por condensación directa, pero los rendimientos son considerablemente bajos, una cuidadosa investigación involucra cambios en la base, temperatura de reacción y proporción de equivalentes. La condensación realizada en un solo paso, por el grupo de Gutsche entre el *p-ter*-butilfenol y formaldehído ha resultado un procedimiento reproducible para la síntesis de *p-ter*-butilcalix[4], [6] y [8]areno con buenos rendimientos. Este procedimiento sintético también ha tenido la ventaja de remover fácilmente los grupos *ter*-butilo; usando como catalizador un ácido de Lewis o Brönsted para dar un calix[n]areno no sustituido, véase esquema 1. Lo que permite la introducción de otros grupos funcionales en el anillo aromático.



Esquema 1. Condensación directa del *p-ter*-butilcalix[n]areno y remoción del grupo *ter*-butilo del borde superior del anillo

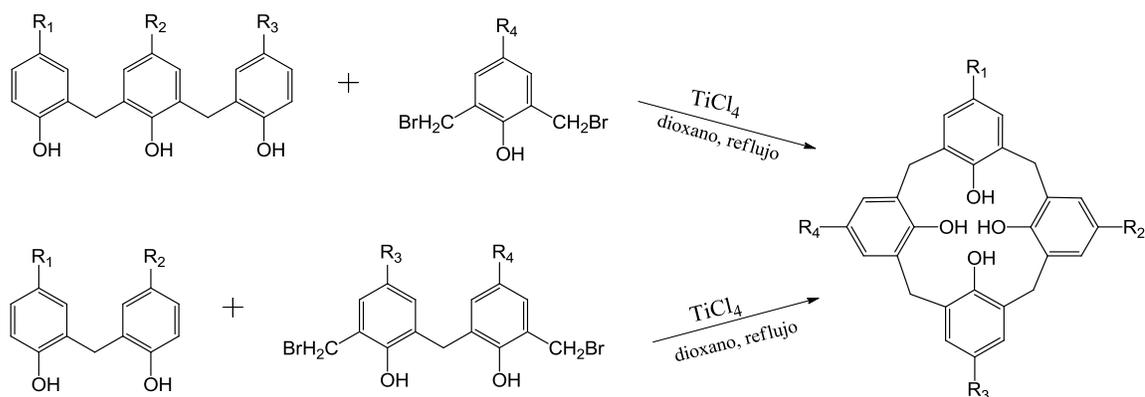
⁴⁰ a) C. D. Gutsche, M. Iqbal, *Org. Synth., Coll. Vol. VIII*, **1993**, 75; b) C. D. Gutsche, B. Dhawan, M. Leonis, D. Stewart, *Org. Synth., Coll. Vol. VIII*, **1993**, 77; c) J. H. Munch, C. D. Gutsche, *Org. Synth., Coll. Vol. VIII*, **1993**, 80.

⁴¹ A. Casnati, R. Ferdani, A. Pochini, R. Ungaro, *J. Org. Chem.* **1997**, 62, 6236.

⁴² I. E. Lubitov, E. A. Shokova, V. V. Kovalev, *Synlett*, **1993**, 647.

El *p-ter*-butilcalix[6]areno es principalmente formado con una gran cantidad de base (KOH o RbOH), mientras que a elevadas temperaturas se favorece la formación del *p-ter*-butilcalix[4]areno. El octámero y hexámero cíclicos pueden ser convertidos a altas temperaturas bajo condiciones básicas; al tetrámero cíclico. Los calixarenos producidos por la síntesis en un solo paso, tienen el mismo sustituyente en posición *para*-, los calixarenos con diferentes sustituyentes pueden ser obtenidos por la síntesis paso a paso, descrita por Hayes y Hunter⁴³ y optimizada por Kämmerer, Happel y colaboradores⁴⁴ por la síntesis convergente desarrollada por Böhmer y colaboradores⁴⁵.

En el esquema 2, se describe la síntesis de un derivado de calix[4]areno a partir de un trímero lineal que puede ser condensado con un derivado de fenol bisbromometilado ó por un dímero lineal con un dímero bisbromometilado, con rendimientos del 10-25 % del calix[4]areno, esta metodología es usada de forma general para los derivados calix[4]areno.



Esquema 2. Síntesis convergente de calix[4]areno

⁴³ B. T. Kayes, R. F. Hunter, *J. Appl. Chem.* **1958**, 8, 743.

⁴⁴ a) H. Kämmerer, G. Happel, F. Caesar, *Makromol. Chem.* **1972**, 162, 179; b) H. Kämmerer, G. Happel, W. B. Mathias, *Makromol. Chem.* **1981**, 182, 1685.

⁴⁵ a) V. Böhmer, P. Chhim, H. Kämmerer, *Makromol. Chem.* **1979**, 180, 2503; b) V. Böhmer, F. Marschollek, L. Zetta, *J. Org. Chem.* **1987**, 52, 3200; c) V. Böhmer, L. Merkel, U. Kunz, *J. Chem. Soc. Chem. Commun.* **1987**, 896.

2.1.7 Resorcinarenos

En 1872 Adolf von Baeyer⁴⁶ reportó en un estudio general la síntesis de tintas fenólicas, en la que la adición de ácido sulfúrico concentrado a una mezcla de resorcinol y benzaldehído dio un producto rojo el cual se torna violeta en solución alcalina y, cuando la mezcla fue calentada un compuesto cristalino fue obtenido en adición a la resina rojiza, que posteriormente resultó ser un isómero. Años después Michael⁴⁷ determinó la composición elemental correcta de este compuesto poco soluble y con alto punto de fusión, de esos datos él concluyó que el producto era formado por la combinación de números iguales de moléculas de resorcinol y benzaldehído y la pérdida de números iguales de moléculas de agua. En 1940, Niederl y Vogel⁴⁸ estudiaron varios productos de condensación de la reacción entre aldehídos alifáticos y resorcinol; de la determinación de los pesos moleculares ellos concluyeron que la relación entre el aldehído y el resorcinol en el producto podría ser de 4:4. Ellos propusieron la estructura del tetrámero cíclico, que se muestra en la figura 13, ($R_1 =$ alquilo, $R_2 = H$), que es análogo al tetrámero cíclico frecuentemente encontrado en la naturaleza, por ejemplo en las porfirinas. Esta estructura fue finalmente demostrada en 1968 por Erdtman y colaboradores por análisis de difracción de rayos X de monocristales⁴⁹. El nombre oficial de la IUPAC para el compuesto **2** ($R_1 =$ alquilo, $R_2 = H$), es 2,8,14,20-tetra-alquilpentaciclo[19.3.1.1^{3,7}.1^{9,13}.1^{15,19}]octosa-1(25),3,5,7(28),9,11,13(27),15,17,19(26),21,23-dodecaeno-4,6,10,12,16, 18, 22,24-octol.

El nombre trivial para este tipo de compuestos, es el propuesto por Gutsche y Böhmer, quienes intentaron clasificarlos como calixarenos, pero nombrándolos calix[4]resorcinarenos⁵⁰ o bien derivados de resorcinol calix[4]arenos⁵¹, existen otros nombres reportados en la literatura como compuestos Högber⁵² o simplemente octoles⁵³.

⁴⁶ a) A. Baeyer, *Ber. Dtsch. Chem. Ges.* **1872**, 5, 25; b) A. Baeyer, *Ber. Dtsch. Chem. Ges.* 1872, 5, 280.

⁴⁷ A. Michael, *J. Am. Chem. Soc.* **1883**, 5, 338.

⁴⁸ J. B. Niederl, H. J. Vogel, *J. Am. Chem. Soc.* **1940**, 62, 2512.

⁴⁹ a) H. Erdtman, S. Högberg, S. Abrahamsson, B. Nilsson, *Tetrahedron Lett.* **1968**, 9, 1679; b) B. Nilsson, *Acta Chem. Scand.* **1968**, 22, 732.

⁵⁰ C. D. Gutsche, *Calixarenes, Monographs in Supramolecular Chemistry*; Stoddart, J. F., Ed.; Royal Society of Chemistry: Cambridge, Vol. 1, **1989**.

⁵¹ J. Vicens, V. Bohmer, Eds. *Calixarenes: a Versatile Class of Macrocyclic Compounds*; Kluwer Academic Press: Dordrecht, **1991**.

⁵² R. J. M. Egberink, P. U. H. M. Cobben, W. Verboom, S. Harkema, D. N. Reinhoudt, *J. Inclusion Phenom.* **1992**, 12, 151.

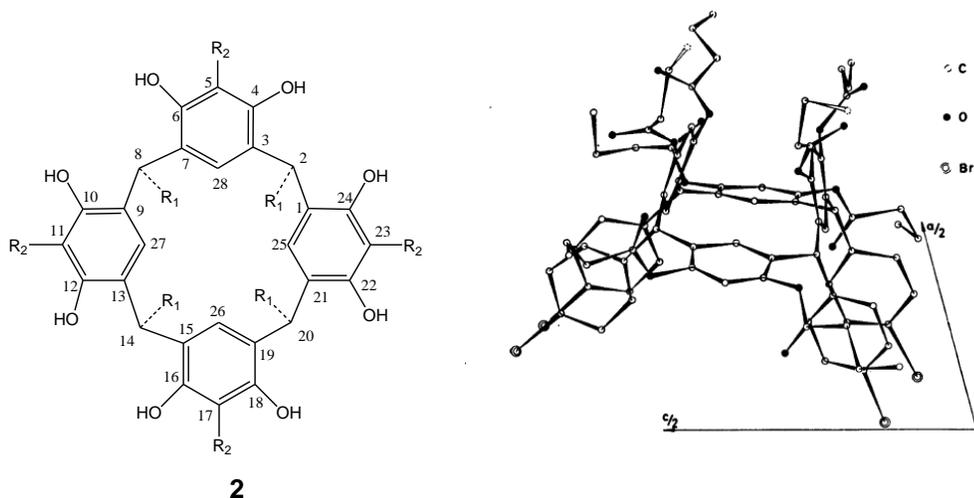


Figura 13. Numeración de los resorcinarenos en general y estructura de rayos X del resorcinareno sintetizado por Erdtman

2.1.7a Síntesis de resorcinarenos

Los resorcinarenos pueden ser preparados con rendimientos moderados, en un procedimiento de un solo paso, sin la necesidad de técnicas de dilución o soportes. Algunos casos involucran la catálisis ácida de la condensación entre el resorcinol y el aldehído alifático o aromático⁵⁴. Recientemente dos nuevos procedimientos para la síntesis de resorcinarenos, con altos rendimientos han sido descritos, involucrando la catálisis con ácido de Lewis de la tetramerización del 2,4-dimetoxicinamato⁵⁵ y el tratamiento del alcohol 2,4-dimetoxibencilo con ácido trifluoro acético⁵⁶.

⁵³ D. J. Cram, S. Karbach, H. E. Kim, C. B. Knobler, E. F. Maverick, J. L. Ericson, R. C. Helgeson, *J. Am. Chem. Soc.* **1988**, 110, 2229.

⁵⁴ a) L. M. Tunstad, J. A. Tucker, E. Dalcanale, J. Weiser, J. A. Bryant, J. C. Sherman, R. C. Helgeson, C. B. Knobler, D. J. Cram. *J. Org. Chem.* **1989**, 54, 1305; b) E. U. Thodeu van Velzen, J. F. J. Engbersen, D. N. Reinhoudt, *J. Am. Chem. Soc.* **1994**, 116, 3597.

⁵⁵ B. Botta, P. Lacomacci, C. Di Giovanni, G. Delle Monache, E. Gacs-Baitz, M. Botta, A. Taft, F. Corelli, D. J. Misti, *J. Org. Chem.* **1992**, 57, 3259; b) B. Botta, C. Di Giovanni, G. Delle Monache, M. C. De Rosa, E. Gacs-Baitz, M. Botta, F. Corelli, A. Taft, A. Santini, E. Benedetti, C. Pedone, D. Misiti, *J. Org. Chem.* **1994**, 59, 1532.

⁵⁶ O. M. Falana, E. Al-Farhan, P. M. Keehn, R. Stevenson, *Tetrahedron Lett.* **1994**, 35, 65.

Condensación resorcinol-aldehído

La reacción de condensación catalizada por ácido entre el resorcinol y un aldehído, se lleva a cabo generalmente por calentamiento de los componentes a reflujo en una mezcla de etanol y HCl concentrado durante varias horas, dependiendo de la naturaleza del aldehído. Por lo general el tetrámero cristaliza de la mezcla de reacción, pero en algunos casos se debe agregar agua para aislar el producto^{37a, 57}, la síntesis es generalmente llevada a cabo con resorcinol sin sustituir (1,3-dihidroxibenceno) pero en ciertos casos, por ejemplo en la reacción con el formaldehído y el 2-metilresorcinol o piragalol (1,2,3-trihidroxibenceno) produce cantidades aislables del producto tetramérico⁵⁸. Una variación casi ilimitada en la estructura del aldehído alifático o aromático puede llevarse a cabo, solamente en el caso de aldehídos impedidos estéricamente como el 2,4,6-trimetilbenzaldehído⁵⁹ ó aldehídos alifáticos con grupos funcionales cercanos al centro de reacción como el ClCH_2COH presentan limitaciones. Derivados del resorcinol con sustituyentes electroattractores como el $-\text{NO}_2$, o el $-\text{Br}$ en la posición 2 o cuando los grupos hidroxilo son parcialmente alquilados no da el producto cíclico. A lo largo de los años se han sintetizado una variedad de resorcinarenos^{60, 61}, algunos de ellos son mostrados en la tabla 1.

Weinelt y Schneider estudiaron el mecanismo de condensación en medio ácido (HCl) de la reacción entre el resorcinol y el acetaldehído en metanol⁴⁶, esquema 3. Bajo esas condiciones el electrófilo no deriva directamente de los aldehídos, sino que se forma rápidamente el acetato de dimetilo **3**. Siguiendo cuantitativamente la formación de todos los oligómeros y los productos cíclicos con respecto al tiempo mediante espectroscopía de RMN ^1H establecieron que, la formación del ciclotetrámero **7** procede vía el acoplamiento secuencial de **3**, con unidades de resorcinol para formar los productos intermediarios **4-6** ó oligómeros superiores que contienen más de cuatro monómeros.

⁵⁷ A. G. S. Htigberg, *J. Org. Chem.* **1980**, 45, 4498.

⁵⁸ a) H. Konishi, Y. Iwasaki, O. Morikawa, T. Okano, J. Kiji, *Chem. Express.* **1990**, 5, 869; b) G. Cometti, E. Dalcanale, A. Du Vosel, A. M. Levelut, *Liquid Crystals.* **1992**, 11, 93.

⁵⁹ F. Weinelt, H. J. Schneider, *J. Org. Chem.* **1991**, 56, 5527.

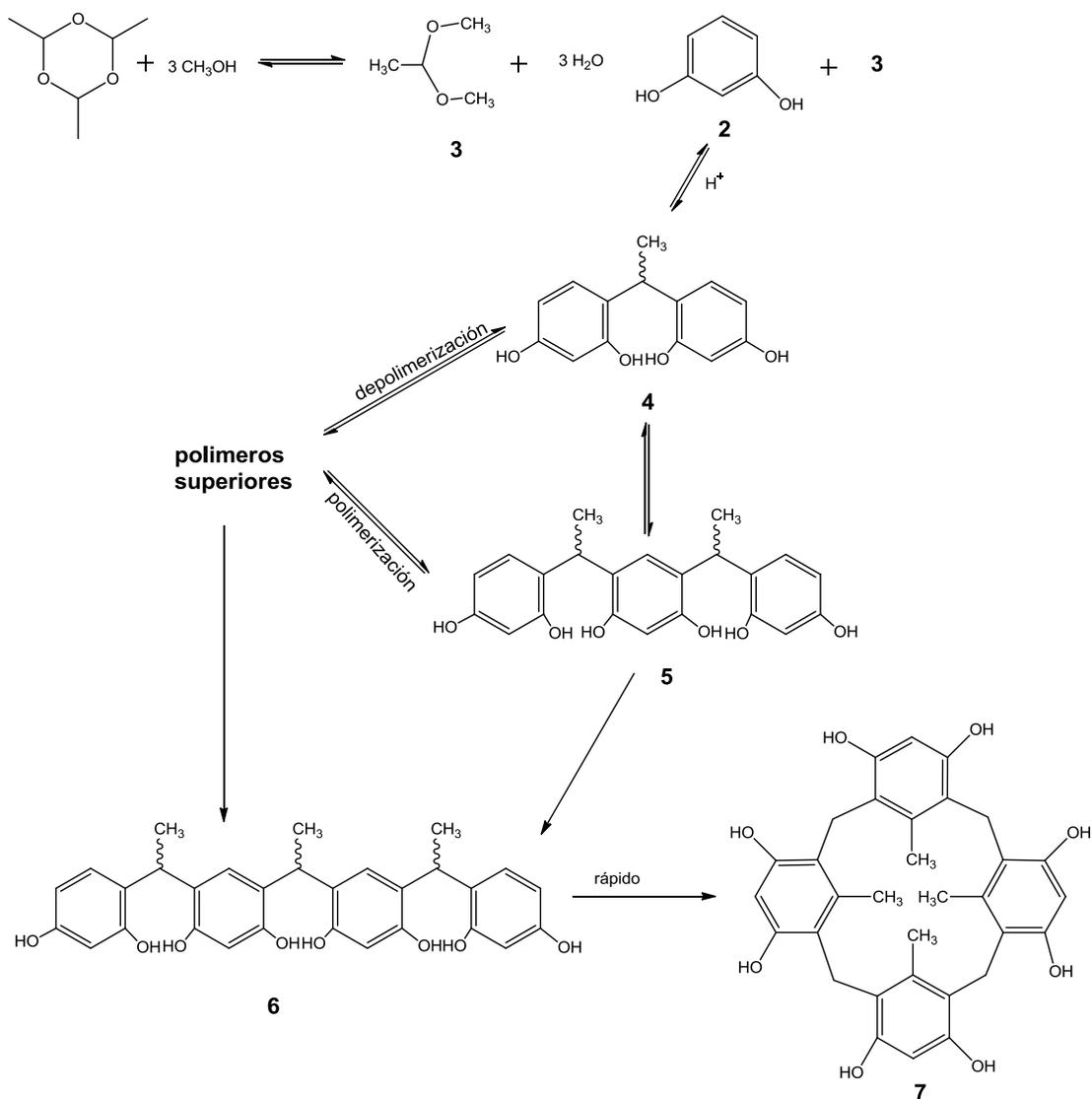
⁶⁰ a) Y. Aoyama, Y. Tanaka, H. Toi, H. Ogoshi, *J. Am. Chem. Soc.* **1988**, 110, 634; b) Y. Aoyama, Y. Tanaka, S. Sugahara, *J. Am. Chem. Soc.* **1989**, 111, 5397.

⁶¹ a) K. Kobayashi, Y. Asakawa, Y. Kato, Y. Aoyama, *J. Am. Chem. Soc.* **1992**, 114, 10307; b) T. Kijima, Y. Kato, K. Ohe, M. Machida, Y. Matsushita, T. Matsui, *Bull. Chem. Soc. Jpn.* **1994**, 67, 2125; c) P. D. Beer, E. L. Tite, A. Ibbotson, *J. Chem. Soc., Dalton Trans.* **1991**, 1691; d) P. D. Beer, E. L. Tite, *Tetrahedron Lett.* **1988**, 29, 2349; e) G. Cometti, E. Dalcanale, A. Du Vosel, A. M. Levelut, *J. Chem. Soc., Chem. Commun.* **1990**, 163.

Tabla 1. Tabla de rendimientos de derivados del resorcinareno **2**, sintetizados a partir de aldehídos alifáticos (funcionalizados) o benzaldehídos (substituidos) y resorcinoles (2-sustituido).

R ₁ en 2	R ₂ en 2	Rendimiento %	Referencia
CH ₃	H	73	40
CH ₃ (CH ₂) ₄	H	77	41a
CH ₃ (CH ₂) IO	H	70	47
(CH ₃) ₂ CHCH ₂	H	95	41a
C ₆ H ₅ (CH ₂) ₂	H	69	41a
NaO ₃ S(CH ₂) ₂	H	40	48a
HO(CH ₂) ₄	H	80	41a
C1(CH ₂) ₅	H	67	41a
CH ₂ =CH(CH ₂) ₈	H	20	41b
C ₆ H ₅	H	83	41a
2-HOC ₆ H ₄	H	78	46
3-O ₂ NC ₆ H ₄	H	72	46
3-H ₃ CSC ₆ H ₄	H	77	39
4-BrC ₆ H ₄	H	43	41a
4-(CH ₃) ₃ CC ₆ H ₄	H	28	41a
4-C ₆ H ₅ C ₆ H ₄	H	99	41a
4-NCC ₆ H ₄	H	52	41a
4-HO ₂ C C ₆ H ₄	H	79	41a
4-H ₂ N C ₆ H ₄	H	Valor no reportado	48b
4-AcHN C ₆ H ₄	H	52	41a
4-H ₃ CO C ₆ H ₄	H	93	41a
4-(C ₆ H ₅ O) C ₆ H ₄	H	76	39
4-HO C ₆ H ₄	H	91	46
3,4-[(OCH ₂ CH ₂) ₄ O]	H	43	48c
C ₆ H ₃	H	34	39
[(CH) ₃ S]C	H	10	48d
(C ₅ H ₅) ⁺ Fe ⁻ (C ₅ H ₄)	CH ₃	90	45a
H	OH	53	45b
H	OH	72	48e

Esos oligómeros superiores están presentes en concentraciones de hasta el 45 % en tiempos de reacción intermedia, pero desaparecen en gran medida hacia el final de la reacción, ya que la reacción de condensación es reversible en las condiciones utilizadas. Todos los productos intermediarios muestran el resorcinol y no las posiciones de metoxietilo en las posiciones terminales que concuerda con las reacciones rápidas de cada especie en condiciones ácidas. El dímero **4** y el trímero **5** pueden ser aislados, pero el tetrámero **6** cicliza rápidamente para acumular cantidades observables. La ciclización rápida está relacionada con su conformación, de acuerdo a cálculos realizados con mecánica molecular, se pliega rápidamente, como consecuencia de la habilidad para formar puentes de hidrógeno entre los grupos hidroxilo del fenol con las unidades adyacentes del resorcinol.



Esquema 3. Síntesis de resorcinarenos

La no planaridad de los resorcinarenos, significa que pueden existir en principio en diferentes formas isoméricas. La estereoquímica es definida como una combinación de los siguientes tres elementos de la estereoquímica:

1. La conformación del anillo macrocíclico, que puede optar por cinco arreglos simétricos: corona (C_{4v}), bote (C_{2v}), silla (C_{4h}), diamante (C_s), y silla de montar (D_{2d}), véase figura 14.

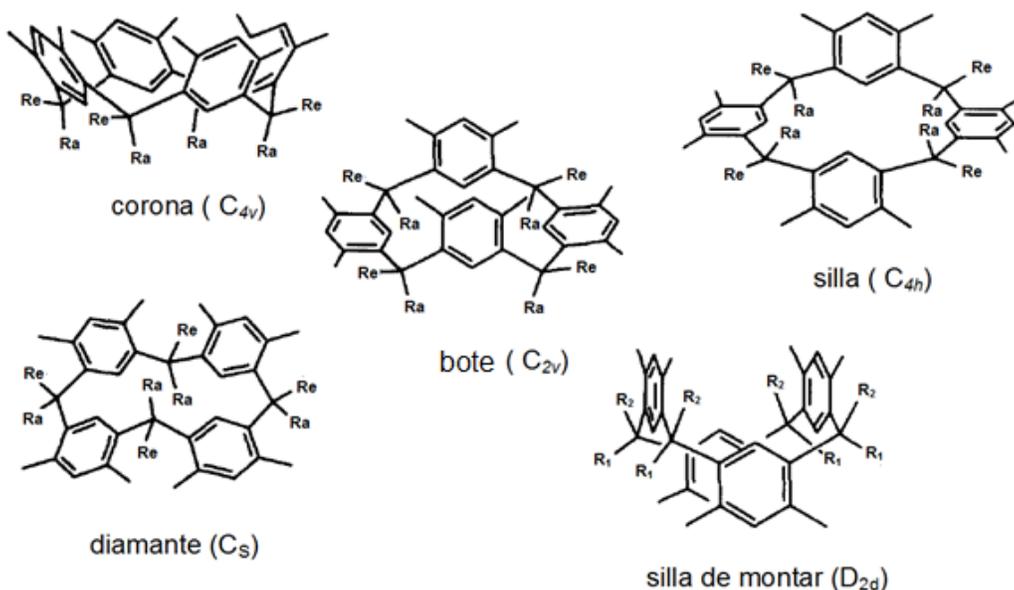


Figura 14. Estereoisómeros de los resorcinarenos

La conformación tipo “bote” es frecuentemente reportada como tipo “corona”, esto se debe a un intercambio rápido entre éstas dos conformaciones, dando en promedio la estructura de “corona”⁶² Los resorcinarenos no-alkilados ($R=H$) con todos los R en arreglos tipo *cis* y sus puentes de metileno no-sustituidos dan otro ejemplo de una movilidad conformacional rápida. Este movimiento ha sido descrito como inversión tipo *flip – flop*⁶³. Para evitar estos cambios conformacionales durante la síntesis, se emplean aldehídos con un alto peso molecular lo que permite obtener solamente la conformación tipo corona.

2. La configuración relativa de los sustituyentes en los puentes de metileno pueden tener las siguientes configuraciones, todos *cis* (*ccc*), *cis-cis-trans* (*cct*), *cis-trans-trans* (*ctt*) y *trans-cis-trans* (*tct*), figura 15.

⁶² a) B. Botta, M. Cassani, I. D’Acquarica, D. Misiti, D. Subissati, G. Delle Monache, *Curr. Org. Chem.* **2005**, 9, 337; b) Y. Matsuzawa Y., *Colloids Surf. A*, **2004**, 247, 47; c) L. Abis, E. Dalcanale, A. Duvosel, S. Spera, *J. Org. Chem.* **1988**, 53, 5475.

⁶³ I. Thondorf, J. Brenn, V. Böhmer, *Tetrahedron*, **1998**, 54, 12823.

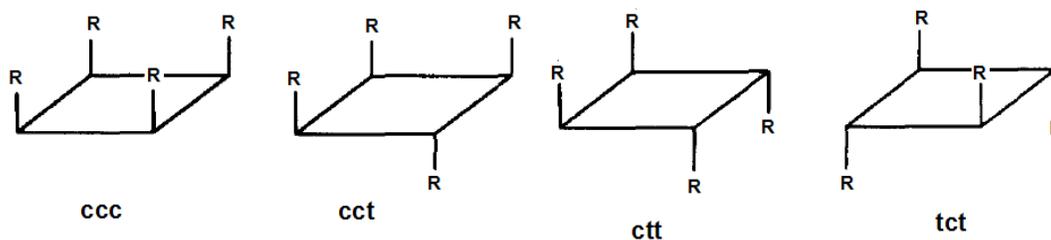


Figura 15. Configuración relativa de los sustituyentes en los puentes de metileno

3. La configuración individual de los sustituyentes en los puentes de metileno, puede ser axial o ecuatorial en los macrociclos con simetría C. La combinación de estos elementos de estereoquímica da lugar a un gran número de posibles estereoisómeros, sin embargo, solamente cuatro de ellos han sido reportados experimentalmente.

En la actualidad se han encontrado las condiciones óptimas para sintetizar a uno sólo de los isómeros, al isómero *rccc* (*r*=resorcinareno) en altos rendimientos, utilizando una amplia variedad de aldehídos, sin embargo, esta conformación se ve favorecida cuando se emplean aldehídos voluminosos⁶⁴, tiofenos^{41,65}, ferrocencarboxialdehído⁶⁶, etc. El isómero *rccc* es el termodinámicamente más estable, dado que con dicha conformación se pueden formar puentes de hidrógeno con los grupos –OH de las unidades de resorcinol, además de la preferencia axial de los grupos R de los metilenos puente del macrociclo.

2.1.7b Aplicaciones de resorcinarenos

Los resorcinarenos son tetrámeros aromáticos con propiedades únicas, su impacto en disciplinas como reconocimiento molecular, química supramolecular y en el área de materiales han encontrado aplicación como tectones supramoleculares⁶⁷ y moléculas-

⁶⁴ F. Weinelt, H. J. Schneider. *J. Org. Chem.* **1991**, 56, 5527.

⁶⁵ D. J. Cram, S. Karbach, H. E. Kim, C. B. Knobler, E. F. Maverick, J. L. Ericson, R. C. Helgeson. *J. Am. Chem. Soc.* **1988**, 110, 2229.

⁶⁶ M. J. McIlwrie, M. Mocerino, B. W. Skelton, A. H. White. *Org. Lett.* **2000**, 24, 3869.

⁶⁷ a) L. R. MacGillivray, J. L. Atwood, *J. Solid State Chem.* **2000**, 152, 199; b) L. R. MacGillivray, P. R. Diamante, J. L. Reid, J. A. Ripmeester, *Chem. Commun.* **2000**, 359; c) R. G. Harrison, N. K. Dalley, A. Y. Nazarenko, *Chem. Commun.* **2000**, 1387.

anfitrionas⁶⁸, como componentes en cristales líquidos⁶⁹, fotorresistores⁷⁰, membranas selectoras⁷¹, agentes modificadores de superficie⁷², fases estacionarias de HPLC⁷³, canales mímicos iónicos⁷⁴ y agentes extractores de metales⁷⁵.

La facilidad de funcionalización de los resorcinarenos es debida a la presencia de los grupos hidroxilo electrodonadores, los cuales son altamente activos para reacciones electrofílicas aromáticas, así existen numerosos ejemplos reportados en la literatura de reacciones de sustitución en las cuatro posiciones de los grupos hidroxilo. Dentro de la amplia variedad de compuestos que se pueden sintetizar a partir de los resorcinarenos, se encuentra una nueva familia de compuestos, a los que se les denominó cavitandos. El nombre cavitando fue dado por Cram⁷⁶ en 1982 a todos aquellos compuestos que contenían una cavidad cóncava lo suficientemente grande como para alojar otras moléculas o iones, véase figura 16. La superficie cóncava permite el posicionamiento de diferentes grupos funcionales que convergen hacia la unión con el sustrato el cual generalmente se encuentra dentro de la cavidad⁷⁷. Este tipo de cavitandos resultan atractivos por que los sustituyentes R₂ pueden ser ampliamente modificados, además los grupos R₃ puentes, pueden definir la forma de la cavidad y también manipular la solubilidad del cavitando.

⁶⁸ a) G. M. Martinez, C. R. Teran, O. A. Tlapanco, A. Toscano, R. Cruz-Almanza, *Fullerene Sci. Technol.* **2000**, 8, 475; b) F. C. Tucci, A. R. Renslo, D. M. Rudkevich, J. Rebek, *Angew. Chem., Int. Ed.* **2000**, 39, 1076.

⁶⁹ K. Yonetake, T. Nakayama, M. Ueda, *J. Mater. Chem.* **2001**, 11, 761.

⁷⁰ a) H. Ito, T. Nakayama, M. Ueda, *US Pat.*, US 6093517, **2000**; b) O. Haba, K. Haga, M. Ueda, O. Morikawa, H. Konishi, *Chem. Mater.* **1999**, 11, 427; c) T. Nakayama, D. Takahashi, K. Takeshi, M. Ueda, *J. Photopolym. Sci. Technol.* **1999**, 12, 347.

⁷¹ a) N. Tbeur, T. Rhlalou, M. Hlaibi, D. Langevin, M. Metayer, J.-F. Verchere, *Carbohydr. Res.* **2000**, 329, 409; b) O. Pietraszkiewicz, M. Kozbial, M. Pietraszkiewicz, *Pol. J. Chem.* **1998**, 72, 886.

⁷² K. Ichimura, E. Kurita, M. Ueda, *Eur. Pat.*, EP 671220, **1995**.

⁷³ O. Pietraszkiewicz, M. Pietraszkiewicz. *J. Inclusion Phenom. Macrocycl. Chem.* **1999**, 35, 261.

⁷⁴ N. Yoshino, A. Satake, Y. Kobuke. *Angew. Chem., Int. Ed.* **2001**, 40, 457.

⁷⁵ a) E. Gaunert, H. Barnier, L. Nicod, A. Favre-Reguillon, J. Foos, A. Guy, C. Bardot, M. Lemaire. *Sep. Sci. Technol.* **1997**, 32, 2309; b) A. R. Mustafina, A. Y. Ziganshina, E. K. Kazakova, *J. Inclusion. Phenom. Macrocycl. Chem.* **2001**, 65.

⁷⁶ J. R. Moran, S. Karbach, D. J. Cram. *J. Am. Chem. Soc.* **1982**, 104, 5826.

⁷⁷ L. N. Markovsky, V. I. Kalchenko, D. M. Rudkevich, A. N. Shivanyuk. *Mendeleev Commun.* **1992**, 106.

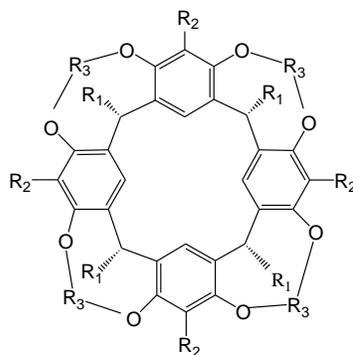


Figura 16. Estructura química de un cavitando

Debido a que los resorcinarenos al igual que los calixarenos, presentan una cavidad, se han utilizado para la formación de complejos con moléculas que pueden ser cationes o moléculas orgánicas polares. Una de las aplicaciones de interés para nuestro grupo de trabajo, es usar a los resorcinarenos para la formación de resorcinaren-dendrimeros que han encontrado aplicaciones en otras áreas de la ciencia, por ejemplo en la obtención de materiales fotorresistentes, o como acarreadores de fármacos; sin embargo el tema relacionado a resorcinaren-dendrimeros será profundizado en la sección 2.2.6.

2.2 DENDRÍMEROS

2.2.1 Una breve perspectiva histórica

La arquitectura dendrítica es quizás una de las topologías generalizadas más observada en nuestro planeta, innumerables ejemplos de este patrón pueden ser encontrados en la naturaleza⁷⁸, por ejemplo en cristales de nieve, erosiones fractales, árboles ramificados, raíces, neuronas, etc., (figura 17). De acuerdo a estos ejemplos el patrón dendrítico se puede encontrar en diferentes escalas de medición, ya sea en metros (árboles), milímetros/centímetros (reino fungi) o micrómetros (neuronas). La razón por la cual esta topología se encuentra en varias escalas de longitud no es del todo claro, sin embargo, se podría especular que se trata de arquitecturas evolutivas que han sido optimizadas por millones de años con la finalidad de proveer una máxima interfase para

⁷⁸ D. Thompson, *On Growth and Form*, Cambridge University Press, London, 1987.

extracción/distribución óptima de energía, extracción/distribución de nutrientes y almacenaje y recuperación de información⁷⁹.

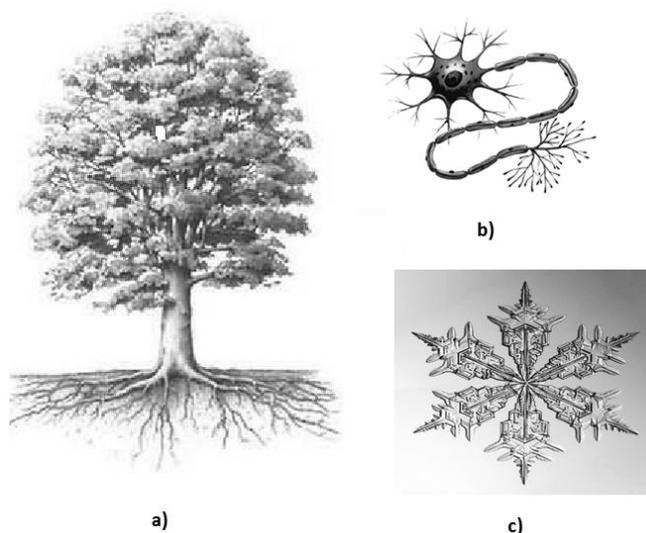


Figura 17. Topología dendrítica, a) árbol ramificado en ramas y raíces, b) neuronas y c) cristal de nieve

En síntesis orgánica la creación y el diseño de compuestos dendríticos es un campo relativamente nuevo. El primer intento exitoso de crear y diseñar estructuras ramificadas por síntesis orgánica se llevó a cabo por Vögtle y colaboradores⁸⁰ (University of Bonn, Germany) en 1978; quien sintetizó aminas y diaminas de bajo peso molecular "moléculas en cascada", mediante la unión de unidades espaciadoras de propilenaamina, cuyos átomos de nitrógeno sirven como punto de ramificación 1→2 (ramificación formal de un enlace a dos nuevos enlaces) durante cada paso repetitivo⁸¹.

En el caso más simple, una monoamina primaria reacciona mediante una doble reacción de Michael con acrilonitrilo (bis-cianoetilación) obteniendo el dinitrilo, véase figura 18. Una subsecuente reducción de los nitrilos por hidrogenación con borohidruro de sodio en la presencia de cobalto (II), permite la terminación diamina. La repetición de esta secuencia sintética (iteración) consiste en adiciones de Michael, seguidas de reducción.

⁷⁹ A. Mizrahi, E. Ben-Ner, M. J. Katz, K. Kedem, J. G. Glusman, F. Libersat, *The Journal of Comparative Neurology*, **2000**, 422, 415.

⁸⁰ E. Buhleier, W. Wehner and F. Vögtle, *Synthesis*, **1978**, 155.

⁸¹ a) N. Feuerbacher, F. Vögtle, *Top. Curr.Chem.* **1998**, 197, 2; b) Y. Zhao, R. R. Tykwinski, *J. Am. Chem. Soc.* **1999**, 121, 458; c) P. A. Jacobi, H. Liu, *J. Am. Chem. Soc.* **1999**, 121, 1958; d) A. Boydston, Y. Yin, B. L. Pagenkopf, *J. Am. Chem. Soc.* **2004**, 126, 10350.

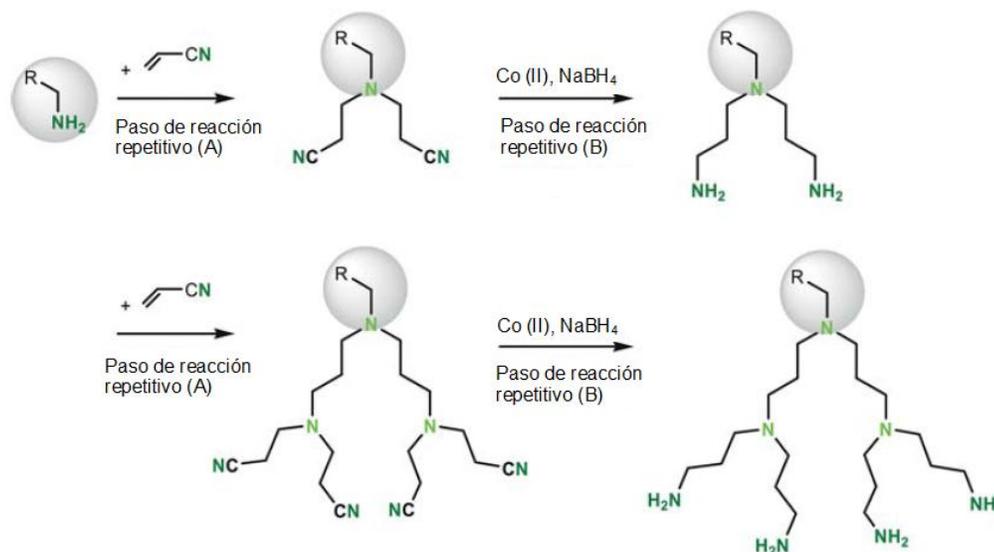


Figura 18. Primera síntesis de "moléculas cascada" (de acuerdo a Vögtle y colaboradores)

Sin embargo después de este primer informe, varios años pasaron antes de que el grupo de Tomalia⁸² (Dow Chemical Company) reportara el primer artículo que involucrara el término dendrímero (constituida a partir de dos palabras griegas, *dendros*: "árbol" o "rama" y *meros*: "parte") el cual describe a detalle la preparación de dendrímeros de poli(amidoamina), en 1985. La síntesis fue iniciada por una adición de Michael a una molécula de amoníaco (utilizada como centro), con tres moléculas de acrilato de metilo, los esteres resultantes fueron convertidos en amidas por reacción con etilendiamina, véase figura 19.

La repetición de la secuencia de reacción (iteración) por analogía con de la síntesis en cascada, permite dendrímeros de hasta diez generaciones. El mismo año se reporto un comunicado de síntesis divergente de arbores (derivados del latín *arbor* =árbol) por Newkome⁸³ y colaboradores (Louisiana State University), con grupos hidroxilo terminales, véase figura 20.

⁸² a) D. A. Tomalia, J. R. Dewald, M. R. Hall, S. J. Martin, P.B. Smith, *Preprints 1st SPSJ Polym. Conf., Soc. Polym. Sci. Jpn., Kyoto, 1984*, 65; b) D. A. Tomalia, H. Baker, J. Dewald, M. Hall, G. Kallos, S. Martin, J. Roeck, J. Ryder, P. Smith, *Polym. J.* **1985**, 17, 117.

⁸³ G. R. Newkome, Z. Q. Yao, G. R. Baker, V. K. Gupta *J. Org. Chem.* **2003**, 50, 1985.

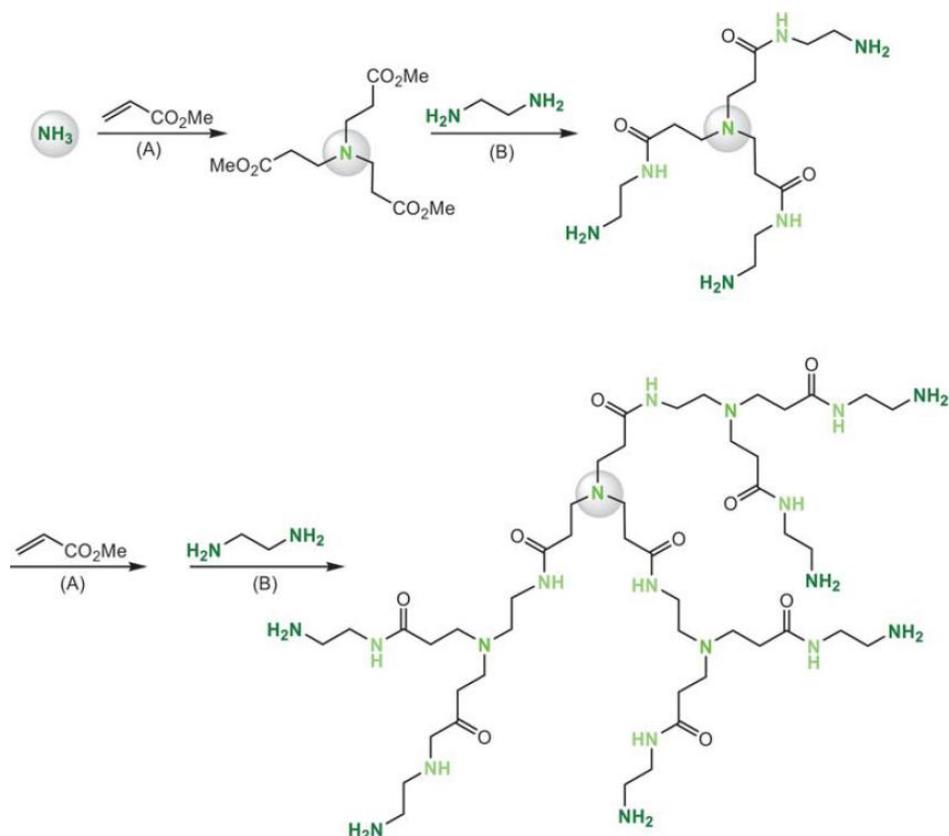


Figura 19. Síntesis de dendrímeros de poliamidoamina (PAMAM, de acuerdo a Tomalia y colaboradores)

Los dendrímeros son algunas veces denotados como "arbores", "polímeros arborecentes" o de manera más amplia "polímeros hiper-ramificados", a pesar de tener una estructura bien definida, deben considerarse como un subgrupo de polímeros hiper-ramificados. A pesar de tener una aceptación difícil, cabe señalar que a finales de 1990 cerca de dos docenas de publicaciones de dendrímeros habían aparecido en revistas de arbitraje, a finales de 1991 la tasa de publicación de artículos referentes a dendrímeros había comenzado a subir notablemente⁸⁴, particularmente en la síntesis, diseño y uso de los mismos en el área química y biológica^{85,86}.

⁸⁴ D. A. Tomalia, J. R. Dewald, M. J. Hall, S. J. Martin, P. B. Smith, *Preprints of the 1st SPSJ International Polymer Conference*, Soc. of Polym. Sci., Japan, Kyoto, **1984**.

⁸⁵ a) F. Zeng, S. C. Zimmernan, *Chem. Rev.* **1997**, 97, 1681; b) A. W. Bosman, H. M. Janssen, E. W. Meijer, *Chem. Rev.* **1999**, 99, 1665.

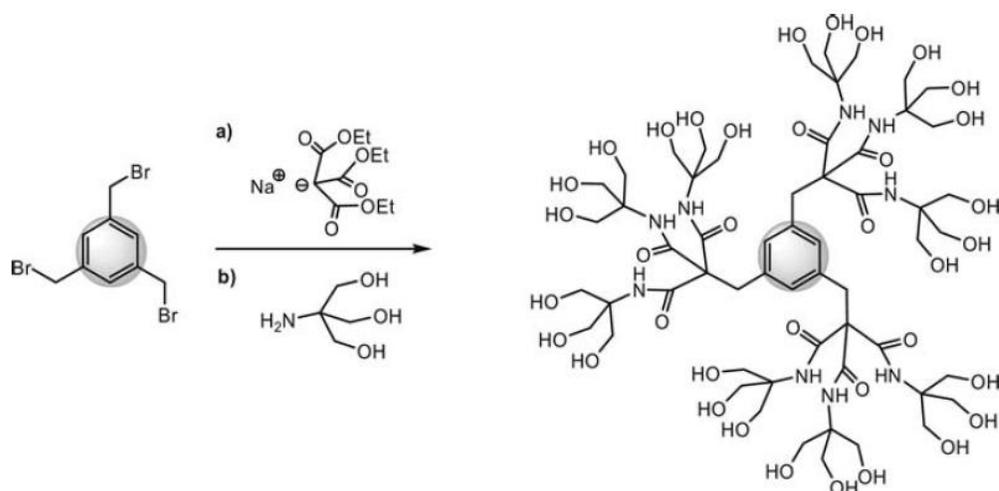


Figura 20. Estructura química de un "arborol" (de acuerdo a Newkome y colaboradores)

2.2.2 Estructura de los dendrímeros

Hay dos tipos básicos de polímeros, que consisten en su totalidad de ramificaciones de unidades repetitivas: dendrímeros y polímeros hiper-ramificados.

Los *polímeros hiper-ramificados* es un término que describe a una clase importante de polímeros de estructura irregular⁸⁷, que presenta una distribución aleatoria en el tamaño de las moléculas y en su grado de ramificación; en su mayoría alcanzada por una polimerización de monómeros AB_n ($n \geq 2$), proveniente de una polimerización no iterativa en un solo paso, quedando en la estructura algunos puntos de ramificación sin reaccionar⁸⁸, véase figura 21. Las propiedades físicoquímicas de los polímeros hiper-ramificados son intermedios entre los dendrímeros y los polímeros lineales.

⁸⁶ a) G. M. Dykes, *J. Chem. Technol. Biotechnol.* **2001**, 76, 903; b) K. Sadler, J. P. Tam, *Rev. Mol. Biotechnol.* **2002**, 90, 195; c) M. J. Cloninger, *Curr. Opin. Chem. Biol.* **2002**, 6, 742; d) M. J. Cloninger, *Curr. Opin. Chem. Biol.* **2002**, 6, 742; e) U. Boas, P. M. H. Heegaard, *Chem. Soc. Rev.* **2004**, 33, 43.

⁸⁷ a) Y. H. Kim, O. Webster. *Plast. Eng.* **1999**, 53, 201; b) Y. H. Kim, O. Webster. *J. Am. Chem. Soc.* **1990**, 112, 4592; c) C. J. Hawker, R. Lee, J. M. J. Fréchet, *J. Am. Chem. Soc.* **1991**, 113, 4583.

⁸⁸ a) C. J. Hawker, *Adv. Polym. Sci.* **1999**, 147, 113; b) J. M. J. Fréchet, I. Gitsov, J. W. Leon, *J. Macromol. Sci., Pure Appl. Chem.* **1996**, A33, 1399.

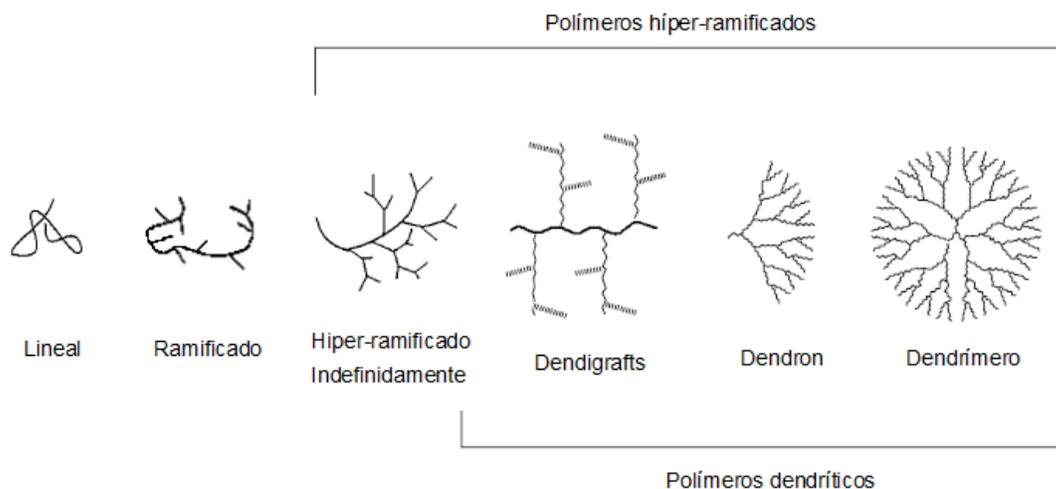


Figura 21. Evolución de polímeros hacia estructuras dendríticas

Por otra parte los dendrímeros, son macromoléculas globulares (figura 21) preparadas por una síntesis iterativa de varias etapas, son altamente ordenados estructuralmente. Su estructura se divide en tres distintas regiones arquitectónicas i) núcleo o centro de actividad, ii) capas de ramificación de unidades repetidas que emanen del centro y iii) los grupos terminales que se encuentran en la última capa de unidades repetidas, figura 22.

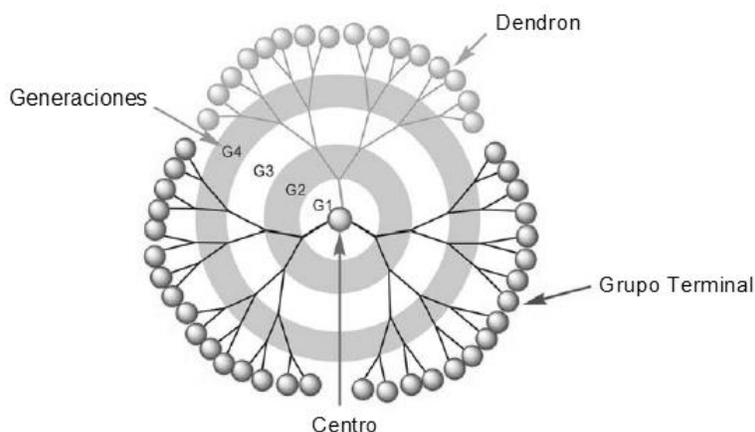


Figura 22. Estructura dendrítica G4, con tres dendrones. En donde cada generación está marcada con un círculo, y grupo terminal

Los dendrímeros son diferenciados de los polímeros hiper-ramificados por su perfección estructural, permitiendo un número exacto de capas concéntricas o generaciones. Al menos tres rasgos característicos de los dendrímeros permiten un contraste agudo con los tradicionales polímeros lineales^{89,90}.

1. Un dendrímero puede ser aislado esencialmente como una capa monodispersa de un simple compuesto, a diferencia de los polímeros lineales cuya síntesis ofrece una gama de especies moleculares que difieren en peso molecular (PM). Monodispersidad de tamaño resultado de un buen diseño de síntesis que permite conducir las reacciones paso a paso, hasta completarla.

2. Conforme el peso molecular se incrementa, las propiedades de los dendrímeros (ej. solubilidad, reactividad química, temperatura de transición vítrea) están determinados por la naturaleza de los grupos terminales. A diferencia de los polímeros lineales que tienen solamente dos grupos terminales, mientras que en el dendrímero el número de grupos terminales se va incrementando exponencialmente conforme aumenta el número de generaciones, por lo que los grupos terminales se convierten en la interfase entre el dendrímero y su entorno.

3. En contraste con el crecimiento de los polímeros lineales que teóricamente, pueden continuar hasta el infinito, el crecimiento dendrítico es matemáticamente limitado. Durante el crecimiento del dendrímero el número de unidades monoméricas incrementa exponencialmente con la generación, por lo que el volumen disponible para el dendrímero, solamente crece proporcionalmente al cubo de su radio. Como consecuencia de esta limitación física, las moléculas dendríticas desarrollan una conformación más globular conforme aumenta el número de generaciones. A determinada generación el impedimento estérico ya no permite un crecimiento regular, conocido como densidad de empaquetamiento de Gennes⁹¹. El crecimiento puede continuar más allá de la densidad de empaquetamiento de Gennes pero esto conlleva a dendrímeros irregulares incorporando defectos estructurales.

⁸⁹ S. M. Grayson, J. M. J. Fréchet, *Chem. Rev.* **2001**, 101, 3819.

⁹⁰ T. Emrick, J. M. J. Fréchet, *Curr. Opin. Colloid. Interface Sci.* **1999**, 4, 15.

⁹¹ P. G. De Gennes, H. Hervet, *J. Phys. Lett.* **1983**, 44, 351.

2.2.3 Términos y nomenclatura en dendrímeros

La química de los dendrímeros, como en otros campos de investigación especializados, tiene sus propios términos y abreviaturas. Por otra parte, una nomenclatura estructural más breve se aplica a describir los eventos químicos diferentes que se celebran en la superficie del dendrímero. En la siguiente sección se describirán una serie de términos y nomenclatura estructural en química de dendrímeros.

Dendron. Es el término que se utiliza para una cuña dendrítica, sin un núcleo, véase figura 21. El dendrímero puede ser preparado vía síntesis convergente, por el acoplamiento de dos ó más dendrones sobre un núcleo, como se verá más adelante. Una clase de dendrones que está disponible comercialmente y se ha aplicado con gran éxito al ensamble covalente y no covalente de dendrímeros, son el tipo Fréchet⁹². Estos son cuñas dendríticas construidas por la estructura hiper-ramificada de polibencileter, que han sido útiles en la construcción de numerosos dendrímeros con diferentes estructuras y funciones.

Generación. La estructura dendrítica es caracterizada por "capas" entre cada punto focal o cascada (puntos de ramificación) llamadas generaciones (mostradas como círculos en la figura 22). El número exacto de generaciones ha sido sujeto de algunas confusiones⁹³. En este trabajo la generación del dendrímero es definido como el número de puntos focales (puntos de ramificación) que van del centro a la superficie, un dendrímero de generación 5 (G5) tiene cinco puntos focales entre el centro y la superficie.

La parte central del dendrímero es algunas veces denotada generación "cero" (G0), sin puntos de ramificación presente. Para un dendrímero de polipropilenimina (PPI)⁹⁴, el centro es 1,4-diaminobutano el cual no tiene puntos focales, para el dendrímero de poliamidoamina (PAMAM) 'StarbustTM' el centro es el amonio, también considerado G0, ya que los hidrógenos no son considerados puntos focales. En los dendrímeros PAMAM, se

⁹² a) C. Hawker, J. M. J. Fréchet, *J. Chem. Soc. Chem. Commun.* **1990**, 1010; b) C. J. Hawker, J. M. J. Fréchet, *J. Am. Chem. Soc.* **1990**, 112, 7638; c) C. J. Hawker, K.L. Wooley, J. M. J. Fréchet, *J. Chem. Soc. Perkin. Trans.* **1993**, 1, 1287.

⁹³ S. Supattapone, H. O. B. Nguyen, F. E. Cohen, S. B. Prusiner, M. Scott, *Proc. Natl. Acad. Sci., USA*, **1999**, 96, 14529.

⁹⁴ E. M. M. Brabander-van den Berg, E. W. Meijer, *Angew. Chem., Int. Ed.* **1993**, 32, 1308.

pueden obtener intermediarios que tienen grupos carboxilato en la superficie y son denotados como medias-generaciones de dendrímeros, ej. G1.5 o G2.5.

Cubierta o capa. La cubierta o capa del dendrímero es el segmento del espacio homoestructural entre los puntos focales y el "espacio de generación". La capa o cubierta exterior es considerado el espacio entre el último punto focal externo y la superficie, mientras que la capa o depósito interior es el interior del dendrímero.

Grupo terminal. También se le conoce como grupo "final" o de "superficie", figura 22. El término de "superficie" es un poco impreciso ya que algunas veces las ramas del dendrímero se pliegan hacia al interior. Los dendrímeros con grupos amino-terminal se denominan "dendrímeros amino-terminados".

Nomenclatura "Bola negra": Debido a que la estructura molecular de un dendrímero es demasiado grande y que la mayoría de las reacciones que se llevan a cabo, tienen lugar en la superficie del dendrímero, puede ser difícil de describir y una manera de facilitar la representación de estas macromoléculas es mostrando el interior (el cual no se modifica) con una bola negra unido al grupo terminal, ver figura 23.

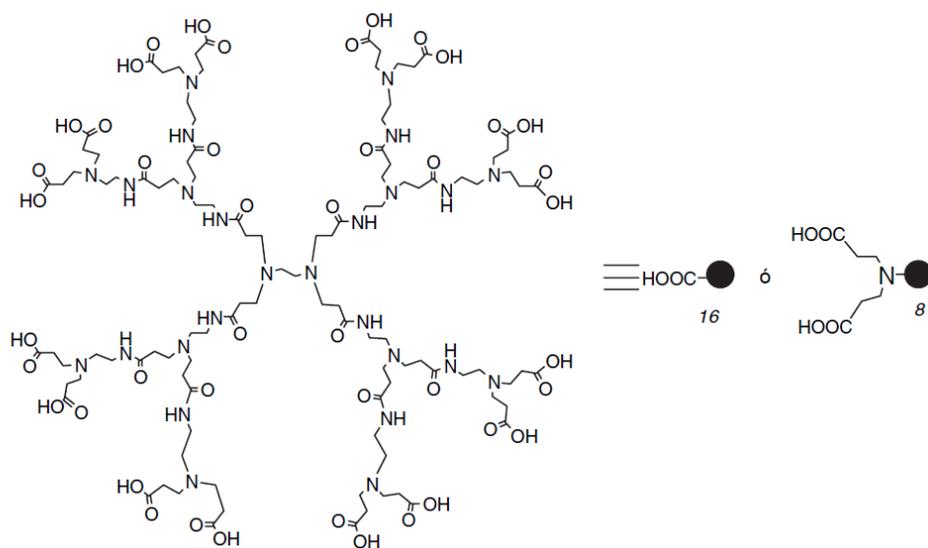


Figura 23. Nomenclatura "bola-negra" de un dendrímero PAMAM G 2.5

2.2.4 Síntesis química de dendrímeros

En general hay dos métodos complementarios para la síntesis de dendrímeros, el divergente y el convergente^{95,96}.

2.2.4a Método divergente

El enfoque divergente, derivado del trabajo de Tomalia y Newkome, es el enfoque sintético usado para los diseños principales de dendrímeros PPI y PAMAM. En donde la construcción del dendrímero se lleva a cabo de manera gradual a partir del núcleo del dendrímero y construyendo la molécula hacia el exterior mediante dos operaciones básicas (1) acoplamiento del monómero y (2) activación del monómero, que puede involucrar la desprotección o transformación del grupo terminal del monómero para crear una nueva superficie reactiva de acoplamiento a un nuevo monómero, figura 24.

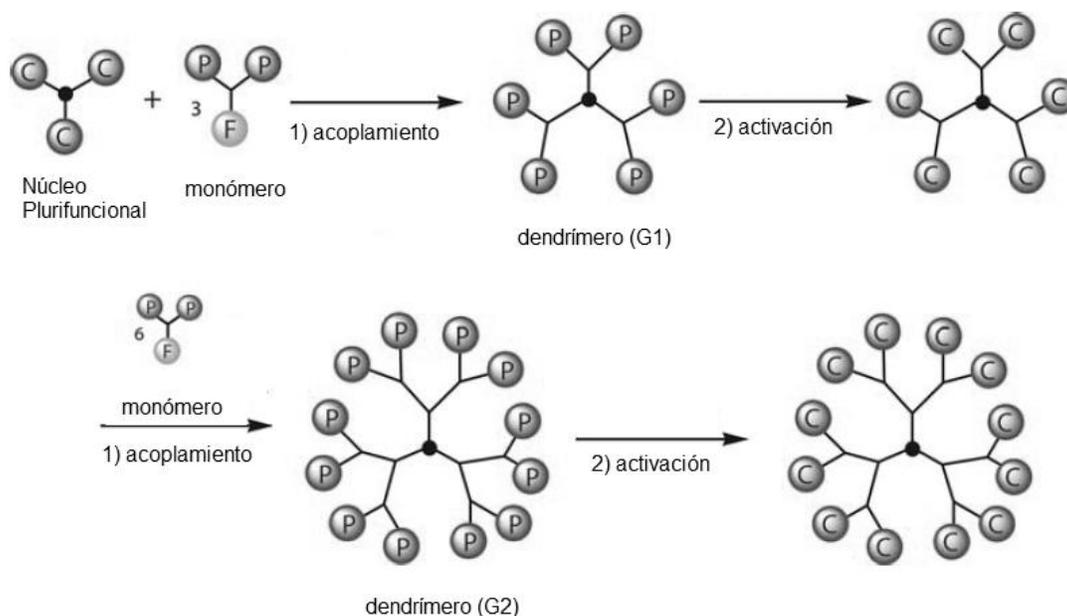


Figura 24. Síntesis Divergente, C=puntos de acoplamiento, F=grupo funcional activo (desprotegido), P= grupo funcional inactivo (protegido). El centro del dendrímero es mostrado como un punto negro. Los pasos de 1) acoplamiento y 2) activación son repetitivos para la construcción de las siguientes generaciones

⁹⁵ G. R. Newkome, C. N. Moorefield, F. Vögtle, *Dendritic Molecules: Concepts, Syntheses, Perspectives*; VCH: Weinheim, Germany, **1996**.

⁹⁶ J. M. J. Fréchet, C. J. Hawker, *Comprehensive Polymer Science, 2nd Supplement*; Pergamon: Oxford, England, **1996**.

La reacción del núcleo plurifuncional con el consecutivo acoplamiento de monómeros, a través de un grupo funcional reactivo (F, funcional) presenta una nueva latente en cada punto de ramificación o lugar de acoplamiento (C), con un incremento de los grupos funcionales (figura 24, acoplamiento), obteniendo así un dendrímero de primera generación. Los grupos terminales (P, protegidos) en cada monómero están diseñados para ser inertes entre sí, lo que impide una polimerización incontrolada, hiper-ramificación. Después de conducir la primera reacción de acoplamiento, los grupos terminales pueden ser activados (C) para pegar una nueva capa de monómeros, capaces de realizar un nuevo acoplamiento (figura 24, activación), y obtener un dendrímero de segunda generación. La activación de los grupos terminales puede involucrar la conversión a una funcionalidad reactiva y acoplarse a una segunda molécula o bien la remoción de un grupo protector. Si esta secuencia iterativa de reacciones de activación y acoplamiento, es repetida sucesivamente, pueden llegar a sintetizarse dendrímeros de generaciones más grandes.

Sin embargo, la repetición de los pasos de acoplamiento y activación conduce a un aumento exponencial de reacciones en la periferia, por lo tanto, un gran exceso de reactivos es necesario para conducir al final ambas reacciones. Por otra parte la diferencia de peso molecular en la molécula, hace posible la purificación por destilación simple, precipitación o ultrafiltración. Teniendo en cuenta la elección adecuada de reacciones de acoplamiento y activación, reactivos y condiciones de reacción; el enfoque divergente es ideal para la producción de dendrímeros a gran escala.

Sin embargo, dado que el número de reacciones de acoplamiento va incrementando exponencialmente con cada generación, la posibilidad de funcionalización incompleta o reacciones secundarias aumentan exponencialmente también. Aunque el retiro del monómero puede ser sencillo, la formación de moléculas resultantes de reacciones de ciclación o reacciones incompletas pueden no ser fáciles de retirar debido a la similitud estructural con el producto final. Además, si el agente activador es capaz de iniciar un nuevo crecimiento, se deben tomar medidas rigurosas para asegurar su completa extracción a fin de evitar la formación de pequeñas impurezas dendríticas, debido a esto y a la densidad de empacamiento de Gennes para dendrímeros de altas generaciones producidos por el método divergente, en comparación con los polímeros lineales, todavía

contienen un apreciable número de defectos estructurales. De las síntesis divergentes estudiadas, algunas son especialmente notables, como los dendrímeros PAMAM^{78,97}, dendrímeros de poli(propileno imina)^{90,98}, arbores de Newkome^{79,99} y los dendrímeros a base de fósforo de Majoral¹⁰⁰.

2.2.4b Método convergente

El método convergente fue primeramente reportado por Hawker y Fréchet en 1989-1990^{88b,101}. El crecimiento procede en dirección opuesta, es decir de la periferia al centro. Los dendrones (funcionalizados) son enlazados a los grupos terminales enlazados al centro plurifuncional. El simbolismo CFP es usado nuevamente para ilustrar el principio de la síntesis, figura 25. El crecimiento inicia de lo que eventualmente se convertirá en el exterior y avanza hacia el interior por acoplamiento del grupo funcional (F), activo (no protegido) de cada rama del monómero, a dos o más sitios de unión (C) no protegidos de una unidad de ramificación, este acoplamiento de dos sitios activos (C), así como un grupo funcional (P) de forma inactiva (protegido), permite un dendron de primera generación (paso A). Después de llevar a cabo el acoplamiento, el único grupo funcional (P) situado en el centro de coordinación del fragmento dendrítico o dendron, se puede activar (paso de activación selectiva). El acoplamiento de este dendron activado con cada uno de las funcionalidades complementarias de otra unidad monomérica, genera un dendrón de segunda generación. Para la obtención de dendrímeros de mayores generaciones los pasos pueden ser repetidos hasta que todos los dendrones del segmento deseado hayan reaccionado. Finalmente después de la repetición suficiente de este proceso, estos dendrones se pueden conectar a un núcleo plurifuncional, a través de su centro de coordinación para generar el dendrímero.

⁹⁷ D. A. Tomalia, H. Baker, J. Dewald, M. Hall, G. Kallos, S. Martin, J. Roeck, J. Ryder, P. Smith, *Macromolecules*, **1986**, 19, 2466.

⁹⁸ D. A. O'Sullivan, *Chem. Eng. News*, **1993**, 20.

⁹⁹ a) G. R. Newkome, C. N. Moorefield, G. R. Baker, A. L. Johnson, R. K. Behera; *Angew. Chem., Int. Ed. Engl.* **1991**, 30, 1176; b) G. R. Newkome, C. N. Moorefield, G. R. Baker, M. J. Saunders, S. H. Grossman, *Angew. Chem., Int. Ed. Engl.* **1991**, 30, 1178; c) G. R. Newkome, R. K. Behera, C. N. Moorefield, G. R. Baker, *J. Org. Chem.* **1991**, 56, 7162; d) G. R. Newkome, A. Nayak, R. K. Behera, C. N. Moorefield, G. R. Baker, *J. Org. Chem.* **1992**, 57, 358; e) G. R. Newkome, J. K. Young, G. R. Baker, R. L. Potter, L. Audoly, D. Cooper, C. D. Weis, K. Morris, C. S. Johnson, *Macromolecules*, **1993**, 26, 2394.

¹⁰⁰ a) N. Launay, A. M. Caminade, R. Lahana, J. P. Majoral, *Angew. Chem.* **1994**, 33, 1589; b) N. Launay, A. M. Caminade, J. P. Majoral, *J. Am. Chem. Soc.* **1995**, 117, 3282; c) J. P. Majoral, A. M. Caminade, *Top. Curr. Chem.* **1998**, 197, 79.

¹⁰¹ C. Hawker, J. M. J. Fréchet, *J. Chem. Soc., Chem. Commun.* **1990**, 1010.

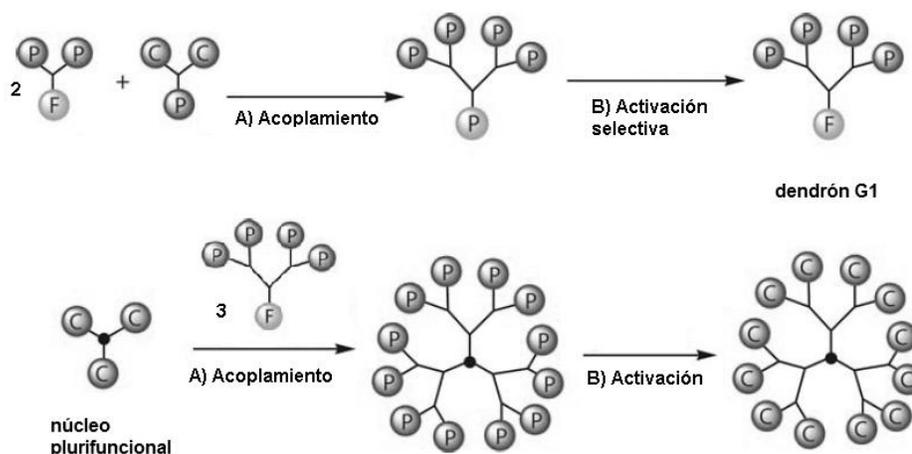


Figura 25. Método convergente, C= puntos de acoplamiento, F=grupo funcional activo (desprotegido), P= grupo funcional inactivo (protegido). El centro del dendrímero es mostrado como un punto negro

Debido a que un pequeño número de terminales reactivas están involucradas, este tipo de síntesis tiene la ventaja de disminuir la presencia de defectos estructurales (por ejemplo, falta de ramificaciones en generaciones mayores) a menudo observadas en la síntesis divergente. Por otra parte los subproductos formados de las reacciones incompletas de los dendrones voluminosos con las unidades de ramificación, pueden ser removidos fácilmente después de cada paso, ya que difieren drásticamente en masa molecular. El crecimiento del dendrímero está sujeto al impedimento estérico de los dendrones hacia la periferia. Esta es la razón por lo que esta estrategia sintética es usada principalmente para la preparación de dendrímeros de bajas generaciones¹⁰².

La estrategia de síntesis convergente proporciona un mayor control estructural, debido al número relativamente bajo de reacciones de acoplamiento en cada etapa de crecimiento, lo que conlleva a la producción de productos dendríticos de alta pureza y versatilidad funcional, debido a la capacidad de colocar con precisión grupos funcionales en toda la estructura, y de manera selectiva modificar los dendrones en el punto focal y en los extremos de la cadena y generar dendrímeros asimétricos.

¹⁰² a) C. J. Hawker, K. L. Wooley, J. M. J. Fréchet, *J. Chem. Soc., Perkin Trans. 1.* **1993**, 1287; b) J. M. J. Fréchet, C. J. Hawker, K. L. Wooley, *J. Macromol. Sci., Pure Appl. Chem.* **1994**, A31, 1627; c) J. S. Moore, Z. Xu, *Macromolecules*, **1991**, 24, 5893; d) Z. Xu, J. S. Moore, *Angew. Chem.* **1993**, 105, 261.

En los últimos años una variedad de síntesis convergentes se han desarrollado, incorporando una amplia gama de funcionalidades; sin embargo, los más reportados son los de poli(aril éter) reportados por Fréchet y colaboradores^{88b,97,103}, los de poli(aril alquino) reportado por Moore y colaboradores¹⁰⁴, entre otros se encuentran los de poli(fenileno)¹⁰⁵, poli(alquil éster)¹⁰⁶, poli(aril alqueno)¹⁰⁷, y poli(alquil éter)¹⁰⁸.

2.2.5 Recientes estrategias de síntesis

2.2.5a Síntesis ortogonal

En la síntesis ortogonal¹⁰⁹ dos diferentes unidades de ramificación con funciones complementarias de acoplamiento son usadas alternativamente y un paso de activación es empleado¹¹⁰. Los reactantes seleccionados así como el producto resultante deben ser inertes al paso posterior de reacción. El término ortogonal significa que las funcionalidades son inicialmente inertes a las condiciones de acoplamiento, pero pueden ser activadas *in situ* para la subsecuente reacción o acoplamiento, figura 26. Si se cumple esta condición, el dendrímero puede ser construido divergentemente o convergentemente en tan solo pocos pasos¹¹¹.

Sin embargo, el método de acoplamiento ortogonal no ha sido del todo adoptado, debido a que los bloques de construcción requieren de estrictas condiciones estructurales¹¹², Spindler y Fréchet fueron los primeros en preparar un dendron G3 de carbamato de polieter, iniciando del cloruro de bencil 3,5-diisocianato y el alcohol 3,5-

¹⁰³ J. M. J. Fréchet, C. J. Hawker, A. E. Philippides, US Patent 5 041 516, **1991**.

¹⁰⁴ J. S. Moore, *Acc. Chem. Res.* **1997**, 30, 402.

¹⁰⁵ T. M. Miller, T. X. Neenan, *Chem. Mater.* **1990**, 2, 346; b) T. M. Miller, T. X. Neenan, R. Zayas, H. E. Bair, *J. Am. Chem. Soc.* **1992**, 114, 1018.

¹⁰⁶ H. Ihre, A. Hult, E. Söderlind, *J. Am. Chem. Soc.* **1996**, 118, 6388.

¹⁰⁷ a) H. Meier, M. Lehmann, *Angew. Chem., Int. Ed. Engl.* **1998**, 37,643; b) M. Lehmann, B. Schartel, M. Hennecke, H. Meier, *Tetrahedron*, **1999**, 55, 13377; c) H. Meier, M. Lehmann, U. Kolb; *Chem. Eur. J.* **2000**, 6, 2462.

¹⁰⁸ a) M. Jayaraman, J. M. J. Fréchet, *J. Am. Chem. Soc.* **1998**, 120, 12996; b) S. M. Grayson, M. Jayaraman, J. M. J. Fréchet, *Chem. Commun.* **1999**, 1329.

¹⁰⁹ a) Newkome, C. N. Moorefield, F. Vögtle, *Dendrimers and Dendrons: Concepts, Syntheses, Applications*, Wiley-VCH, Weinheim **2001**; b) J. M. J. Fréchet, D. A. Tomalia, *Dendrimers and Other Dendritic Polymers*, Wiley, New York **2002**; c) I. In, S. Y. Kim, *Macromolecules*, **2005**, 38, 9399.

¹¹⁰ R. Spindler, J. M. J. Fréchet, *J. Chem. Soc., Perkin Trans. 1*, **1993**, 913.

¹¹¹ F. Zeng, S. C. Zimmerman, *J. Am. Chem. Soc.* **1996**, 118, 5326.

¹¹² S. M. Grayson, J. M. J. Fréchet, *Chem. Rev.* **2001**, 101, 3819.

dihidroxibencilo, en una síntesis one-pot¹¹⁰, Zimmerman¹¹¹ y colaboradores reportaron la primera aplicación de acoplamiento ortogonal en la síntesis de dendrímeros de generaciones altas.

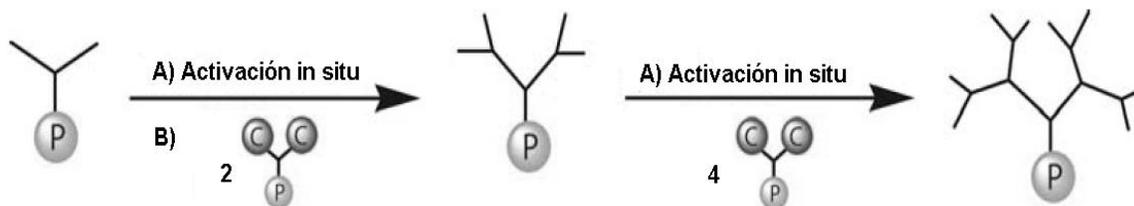


Figura 26. Síntesis ortogonal, C= puntos de acoplamiento, P= grupo funcional inactivo (protegido). En la activación in situ, P esta temporalmente transformado en F (grupo funcional activo, desprotegido), que sufre una reacción espontánea

2.2.5b Método convergente, doble-etapa

Esta nueva variante es una combinación del método divergente y el convergente. El paso relevante consiste en el acoplamiento de un dendron pequeño con un grupo funcional activo (F) en el punto focal, producido por la síntesis convergente a un dendrímero multifuncional de baja generación con sitios periféricos de acoplamiento(C), donde el hipercentro es producido por el método divergente^{113,114}, figura 27.

Comparado con el método divergente convencional, el método de doble etapa promete el acceso rápido a dendrímeros monodispersos de generaciones altas, combinado con la diversidad de las funcionalidades terminales, ya que los grupos funcionales de la superficie del centro plurifuncional están sujetos a menor impedimento estérico que en el caso de centros no dendríticos de la síntesis convergente. Por otra parte este aprovechamiento permite la formación de dendrímeros con diferentes unidades de ramificación interiores y exteriores (dendrímeros layer-block)^{112,115}.

¹¹³ K. L. Wooley, C. J. Hawker, J. M. J. Fréchet, *J. Am. Chem. Soc.* **1991**, 113, 4252.

¹¹⁴ T. M. Miller, T. X. Neenan, R. Zayas, H. E. Bair, *J. Am. Chem. Soc.* **1992**, 114, 1018; b) Z. F. Xu, M. Kahr, K. L. Walker, J. S. Moore, *J. Am. Chem. Soc.* **1994**, 116, 4537; c) H. Ihre, A. Hult, J. M. J. Fréchet, I. Gitsov, *Macromolecules*, **1998**, 31, 4061.

¹¹⁵ V. Maraval, R. Laurent, B. Donnadiou, M. Mauzac, A. M. Caminade, J.P. Majoral; *J. Am. Chem. Soc.* **2000**, 122, 2499.

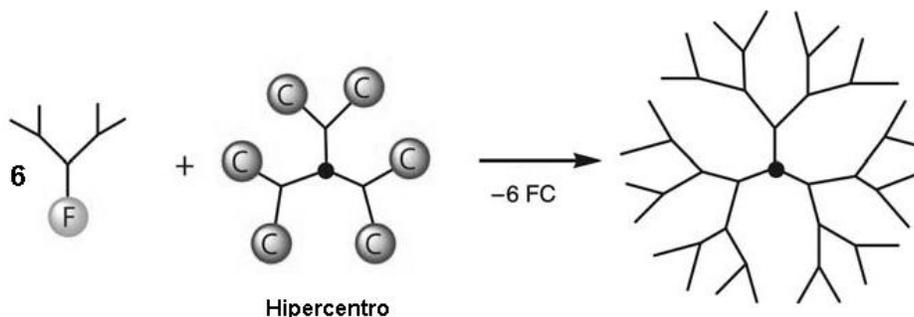


Figura 27. Método convergente doble-etapa, C= puntos de acoplamiento, F= grupo funcional activo (desprotegido)

2.2.5c Método doble exponencial

El método de doble exponencial puede ser considerado básicamente como una estrategia de crecimiento convergente, de un dendrón¹¹⁶. Esto involucra la síntesis en dos direcciones, hacia la periferia y hacia el punto focal. Iniciando de una unidad ramificada, completamente protegida, (que consiste en dos sitios de acoplamiento protegidos (C), y una funcionalidad (F, protegida)); la selectiva desprotección es realizada de tal manera que el grupo funcional (F) es activado en una de las unidades ramificadas y las otras dos unidades de acoplamiento son activados en el otro. Si las dos unidades de ramificación con grupos activos (F, figura 28) ahora reaccionan con un grupo que tiene dos sitios de acoplamiento (C), un dendron de segunda generación es formado. La iteración de la secuencia sintética permite la obtención de un dendron de cuarta generación. El acceso a dendrones de cuarta generación tipo Fréchet, pueden realizarse en una sola etapa por este método, pero a partir del dendron de segunda generación, ya que hay una duplicación en el número de generaciones.

¹¹⁶ a) R. Klopsch, P. Franke, A. D. Schlüter, *Chem. Eur. J.* **1996**, 2, 1330; b) T. Kawaguchi, K. L. Walker, C. L. Wilkins, J. S. Moore, *J. Am. Chem. Soc.* **1995**, 117, 2159.

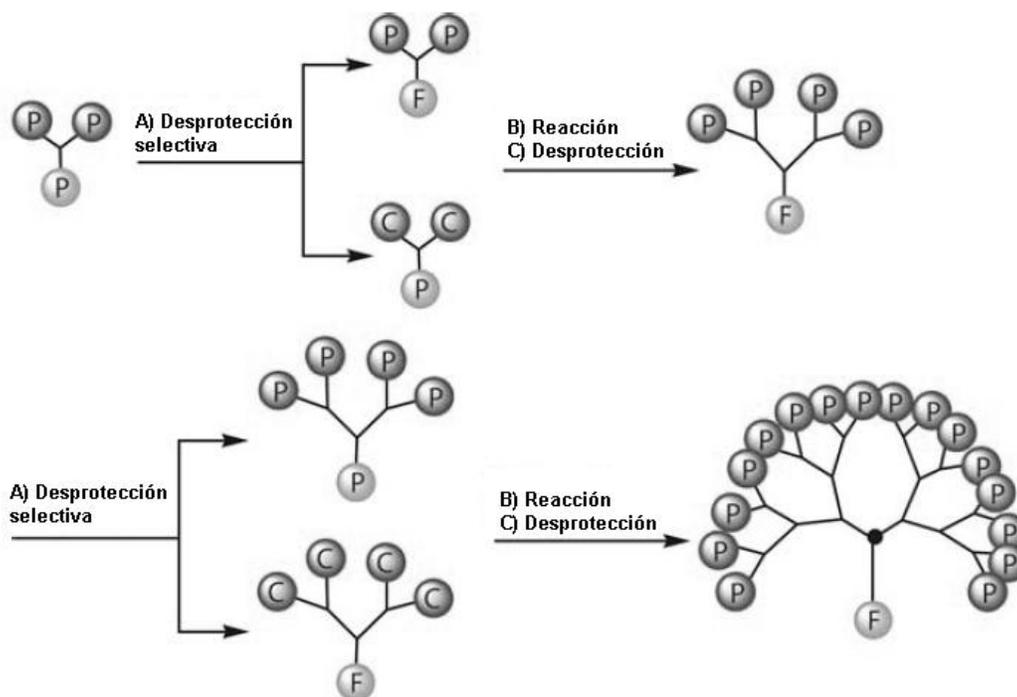


Figura 28. Método doble exponencial. C= puntos de acoplamiento, F=grupo funcional activo (desprotegido), P= grupo funcional inactivo (protegido)

2.2.5d Método del hipermonómero

Comparando los monómeros convencionales FC_2 ó FC_3 , el número de grupos terminales se incrementa rápidamente (ramificación $1 \rightarrow 4$) con bloques de construcción monoméricas FC_4 (ejemplo, hipermonómeros). Sin embargo, el número de pasos sintéticos requeridos para la construcción de un dendrímero son iguales que los requeridos por el método convencional. El curso de la síntesis puede ser descrito como sigue (figura 29): Cuatro unidades ramificadas con un grupo funcional activo (F) se ponen a reaccionar con los grupos de acoplamientos (C) activos del hipermonómero FC_4 , donde el grupo funcional (F) en el hipermonómero por sí mismo es desactivado y por lo tanto se le etiqueta como protegido (P)^{117,118}.

¹¹⁷ K. L. Wooley, C. Hawker, J. M. J. Fréchet; *Angew. Chem.* **1994**, 106, 123; *Angew. Chem. Int. Ed.* **1994**, 33, 82.

¹¹⁸ a) B. Forier, W. Dehaen, *Tetrahedron*, **1999**, 55, 9829; b) G. Labbé, B. Forier, W. Dehaen, *Chem. Commun.* **1996**, 2143.

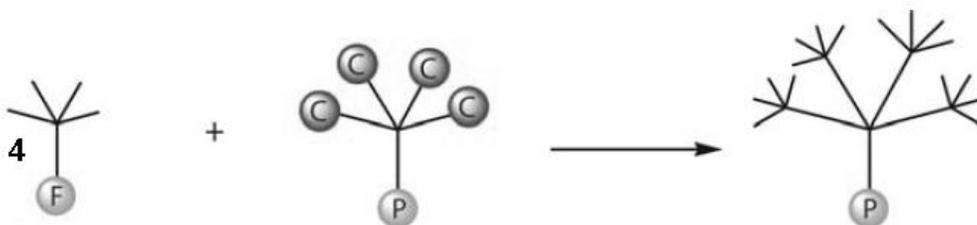


Figura 29. Método Hipermonómero, C= puntos de acoplamiento, F= grupo funcional activo (desprotegido), P= grupo funcional inactivo (protegido)

2.2.5e Click chemistry

En el 2001 Sharpless¹¹⁹ propuso este método, en la que unidades pequeñas se unen a través del enlace con un heteroátomo (C-X-C; X=heteroátomo), como una ruta rápida de síntesis. Las “reacciones click” tienen una amplia aplicabilidad en reacciones de química orgánica, generando altos rendimientos, los reactivos de inicio son altamente accesibles, los subproductos se pueden separar fácilmente en caso de haberlos, y las condiciones de reacción son directas, además de ser estereoespecífica.

La “click chemistry” en sí no representa un nuevo tipo de síntesis, sino que simplemente facilita el curso de la síntesis mediante la selección adecuada de los parámetros. Wooley y colaboradores¹²⁰ prepararon dendrímeros de segunda y tercera generación mediante una estrategia “click divergente”. Para este propósito la primera generación de azido-dendrímero fue transformada en una reacción catalizada por Cu(I) con el monómero alquilado a un triazol dendrímero con grupos hidroxilos terminales, que en una segunda etapa se transformaron en grupos funcionales azida con la finalidad de sufrir la reacción repetitivamente con el monómero alquilado¹²¹. Por otra parte los glicol

¹¹⁹ a) H. C. Kolb, M. G. Finn, B. Sharpless, *Angew Chem. Int. Ed.* **2001**, 4011, 2004; b) R. A. Evans, *Australian Journal of Chemistry*, **2007**, 60, 384.

¹²⁰ P. Wu, A. K. Feldman, A. K. Nugent, C. J. Hawker, A. Scheel, B. Voit, J. Pyun, J. M. J. Fréchet, K. B. Sharpless, V. V. Fokin, M. J. Joralemon, R. K. O’Reilly, J. B. Matson, A. K. Nugent, C. J. Hawker, K.L. Wooley, *Macromolecules*, **2005**, 38, 5436.

¹²¹ a) M. Malkoch, K. Schleicher, E. Drockenmuller, C. J. Hawker, T. P. Russell, P. Wu, V. V. Fokin, *Macromolecules*, **2005**, 38, 3663; b) P. Wu, A. K. Feldman, A. K. Nugent, C. J. Hawker, A. Scheel, B. Voit, J. Pyun, J. M. J. Fréchet, K. B. Sharpless, V. V. Fokin, *Angew. Chem.* **2004**, 116, 4018.

dendrimeros no protegidos, así como los péptido, y redox-dendrimeros pueden ser sintetizados por esta vía¹²²

2.2.6 Resorcinaren-dendrimeros

Yamakawa y colaboradores¹²³ reportaron en 1998 la síntesis de resorcinaren-dendrimeros, usando como núcleo los resorcinarenos con 12 o 16 grupos fenolicos **8** y **9**, figura 30. Los compuestos **8** y **9** fueron preparados en un solo paso, por la reacción del resorcinol con 3,5-dihidroxibenzaldehido y 4-hidroxibenzaldehido, respectivamente. La reacción fue llevada a cabo en medio acuoso, usando como catalizador ácido clorhídrico. Los tetrámeros cíclicos fueron obtenidos selectivamente. Los isómeros con la configuración *rccc* y *rctt* fueron predominantes, de acuerdo a los resultados de RMN ¹H.

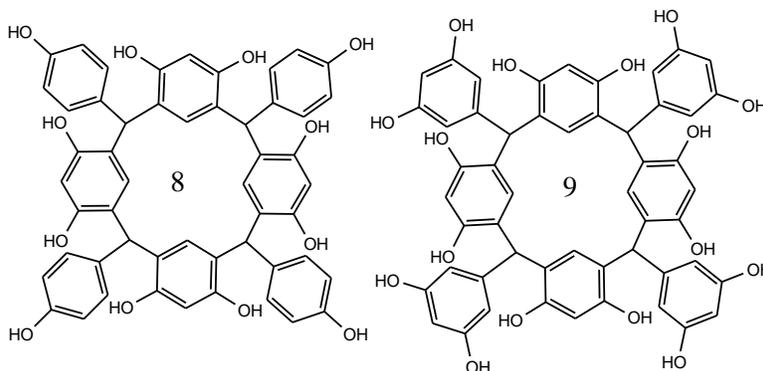


Figura 30. Resorcinarenos **8** y **9** con 12 y 16 grupos hidroxilos respectivamente

El dendrimer de primera generación **11** fue obtenido empleando el método divergente, por medio de una *O*-alquilación del resorcinareno **9** con el bromuro del 3,5-bis(aliloxi) bencílico **10**, esquema 4. El 3,5-dihidroxibencil éter fue seleccionado como bloque de construcción de los dendrimeros, en donde los grupos hidroxilos fueron protegidos con bromuro de alilo y carbonato de potasio en acetona. El compuesto 3,5-dihidroxibenzoato comercialmente disponible, fue convertido al metil 3,5-

¹²² a) E. Fernandez-Megia, J. Correa, I. Rodriguez-Meizoso, R. Riguera, *Macromolecules*, **2006**, 39, 2113; b) K. N. Lau, H. F. Chow, M. C. Chan, K. W. Wong; *Angew. Chem.* **2008**, 120, 5606; *Angew. Chem. Int. Ed.* **2008**, 47, 6912.

¹²³ Y. Yamakawa, M. Ueda, R. Nagahata, K. Takeuchi, M. Asai, *J. Chem. Soc. Perkin. Trans. 1.* **1998**, 4135.

bis(aliloxi)benzoato y reducido con hidruro de litio y aluminio al 3,5 bis(aliloxi)bencil alcohol, que posteriormente fue bromado con tetrabromuro de carbono, para obtener el compuesto **10**.

La segunda generación de los dendrímeros se inició con la desprotección del dendrímero **11** por reducción, con dicloruro de paladio bis(trifenilfosfina) y formiato de amonio en THF. El dendrímero desprotegido **12** se hizo reaccionar con el dendrón **10**, bajo las mismas condiciones de reacción de la síntesis del dendrímero **11**, esquema 4. Obteniendo el dendrímero de segunda generación **13** con 52% de rendimiento.

Al mismo tiempo¹²⁴ fue realizada la síntesis de dos generaciones de dendrímeros a partir de poli(bencil éter)empleando al resorcinareno como molécula centro. Las dos generaciones de dendrones fueron sintetizadas a partir del monómero base AB₂ y el alcohol 3,5-dihidroxibencílico **14**, la síntesis se realizó en dos pasos, usando el método convergente, empleando los hiper-monómeros **15** y **16** silil protegidos, como se muestra en el esquema 5. Los ocho dendrones fueron acoplados al resorcinareno **17** bajo condiciones básicas, obteniéndose los dendrímeros **18** y **19** con una conformación tipo *rccc* únicamente.

Los trabajos descritos con anterioridad, han dado la pauta para la construcción de una gran cantidad dendrímeros que utilizan como centro los calixarenos y como unidades de ramificación una gran variabilidad de compuestos, tales como azobencenos¹²⁵, azúcares¹²⁶, péptidos¹²⁷, oxidos de carbamoilmetil-fosfina¹²⁸, triaminometilamina¹²⁹, éteres corona¹³⁰, y los propios calixarenos¹²⁴.

Los dendrímeros y calixarenos han encontrado aplicabilidad en diferentes áreas de investigación, por lo que la unión de estos dos campos genera muchas perspectivas atractivas, dado que ya se conoce la aplicación de los calixarenos como maquinas moleculares, agentes de transporte, reactores moleculares, sensores, etc.

¹²⁴ R. Kleppinger, H. Reynaers, K. Desmedt, B. Forier, W. Dehaen, M. Koch, P. Verhaert; *Macromol. Rapid Commun.* **1998**, 19, 111.

¹²⁵ T. Nagasaki, S. Tamagaki, K. Ogino, *Chem. Lett.* **1997**, 19, 717.

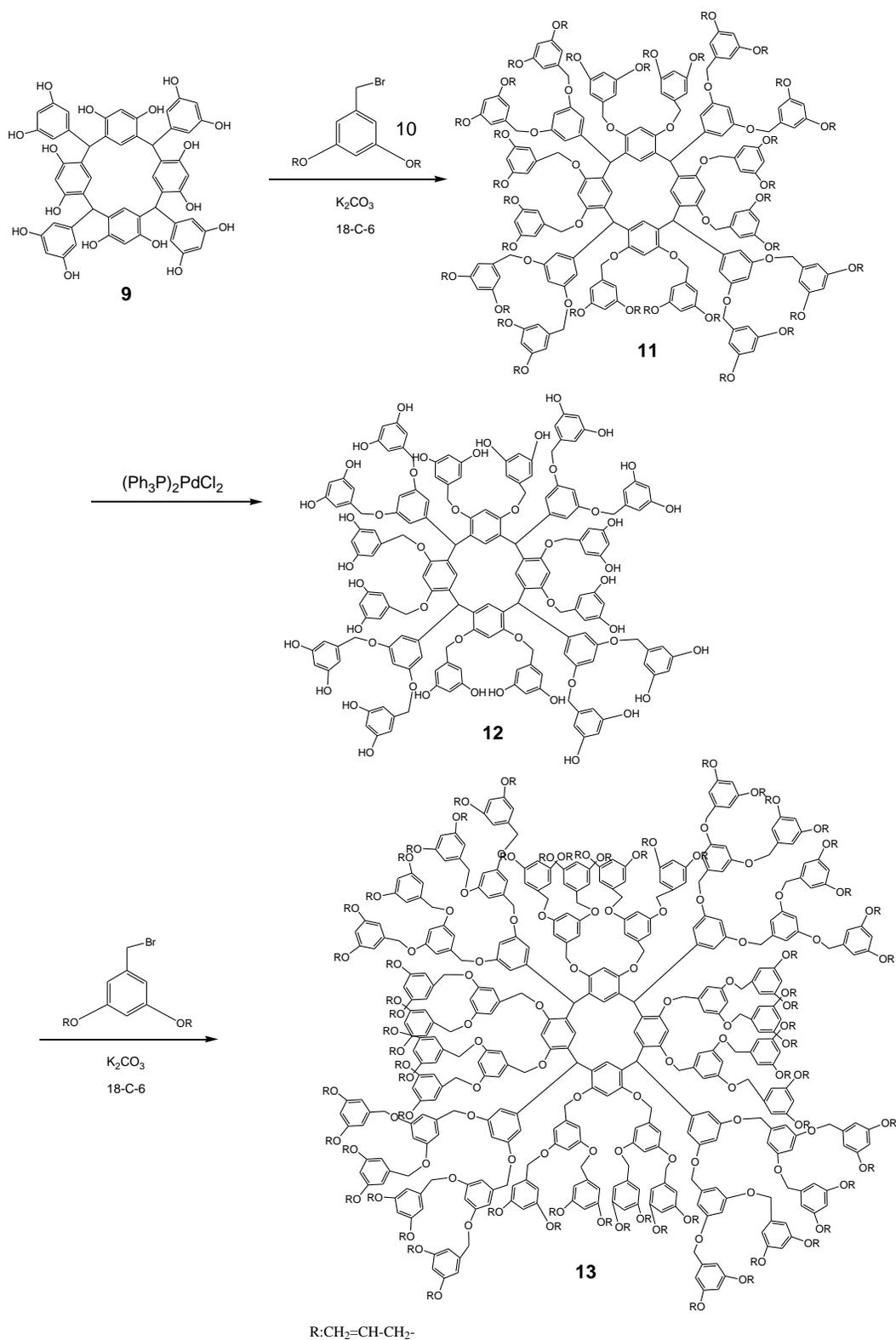
¹²⁶ R. Roy, J. M. Kim, *Angew. Chem. Int. Ed.* **1999**, 38, 369.

¹²⁷ H. Xu, G. R. Kinsel, J. Zhang, *Tetrahedron*, **2003**, 59, 583.

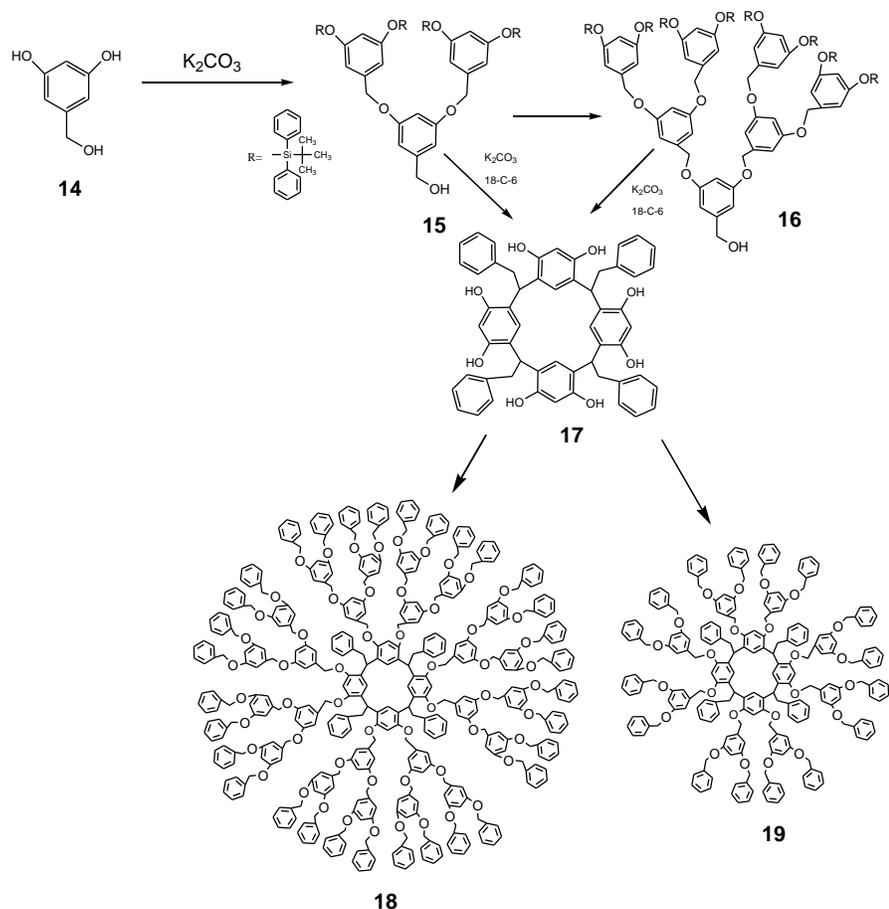
¹²⁸ P. Wang, M. Saadioui, C. Schmidt, *Tetrahedron*, **2004**, 60, 2509.

¹²⁹ N. Cheria, R. Abidi, J. Vicens, *Tetrahedron Lett.* **2004**, 45, 7795.

¹³⁰ J. H. Bu, Q. Y. Zheng, C. F. Chen. *Tetrahedron*, **2005**, 897.



Esquema 4. Síntesis de la segunda generación de resorcinaren-dendrímtero **18**



Esquema 5. Síntesis de polibencil-éter resorcinaren-dendrimeros **18** y **19**

2.2.7 Dendrimeros como liberadores de fármacos

La aplicación de los dendrimeros en el área farmacéutica y química medicinal está convirtiéndose rápidamente en una de las áreas más atractivas de aplicación¹³¹, tal es el caso del uso de dendrimeros en la transfección de genes¹³², como agentes médicos de imagen¹³³ y más específicamente la aplicación de los dendrimeros como sistemas liberadores de fármacos¹³⁴.

¹³¹ M. Liu, J. M. J. Fréchet, *PSTT*, **1999**, 2, 10, 393.

¹³² a) J. Haensler, F. C. Szoka, *Bioconjugate Chem.* **1993**, 4, 372; b) M. X. Tang, C. T. Redemann, F. C. Szoka, *Bioconjugate Chem.* **1996**, 7, 703.

¹³³ a) E. C. Wiener, *Magn. Reson. Med.* **1994**, 31, 1; b) E. C. Wiener, *Invest. Radiol.* **1997**, 32, 748; c) G. Adam., *Magn. Reson. Med.* **1994**, 32, 622; d) G. Adam, *J. Magn. Res. Imaging*, **1994**, 4, 462; e) M. W. Bourne, *J. Magn. Res. Imaging*, **1996**, 6, 305; f) H. C. Schwickert, *Eur. J. Radiol.* **1995**, 20, 144.

La estructura bien definida, compacta y globular, así como el tamaño, monodispersidad y grupos funcionales controlados en la superficie del dendrímero, los hacen excelentes candidatos para ser evaluados como acarreadores de fármacos, además de que los dendrímeros pueden penetrar las células por endocitosis, llevando consigo el fármaco al interior de la misma. Otro aspecto importante es que muestran el efecto de permeabilidad y retención realzadas (EPR), que los hace atractivos para la orientación a células tumorales¹³⁵. La vasculatura tumoral tiene un aumento de la permeabilidad y un limitado drenaje linfático, lo que conlleva a la acumulación de la macromolécula en las células tumorales.

Los dendrímeros potencialmente pueden ser usados como liberadores de fármacos por dos caminos:

1. Haciendo uso de la química huésped-anfitrión (Química supramolecular). El fármaco (huésped), puede ser atrapado físicamente en el interior de la estructura dendrítica (anfitrión), y ser liberado por cambios en el medio ambiente, tales como pH, temperatura, o simplemente por difusión. La unión anfitrión-huésped puede tener lugar en el centro o núcleo del dendrímero (endo-receptor) o en la superficie polivalente o capa exterior del dendrímero (exo-receptor).

2. El fármaco puede ser unido covalentemente a la superficie del dendrímero, formando el conjugado dendrímero-fármaco. En donde el fármaco es liberado por una degradación *in vivo*, requiriendo de enzimas específicas o de un medio ambiente capaz de degradar el enlace covalente en cuestión

¹³⁴ a) U. Boas, J. B. Chirstensen, P. M. H. Heegaard, *Dendrimers in Medicine and Biotechnology, New Molecular Tools*. Published by The Royal Society of Chemistry, Cambridge CB4 0WF, UK, **2006**, 62; b) R. Duncan, J. Kopecek, *Adv. Polym. Sci.* **1984**, 57, 51.

¹³⁵ E. R. Gillies, E. Dy, J. M. J. Frechet, F. C. Szoka, *Mol. Pharm.* **2005**, 2, 129.

2.2.8 Sistemas Huésped-Anfitrión

2.2.8a Cajas dendríticas

Las cajas dendríticas^{136,137}, son los primeros ejemplos de complejos huésped-anfitrión basado en dendrímeros, donde las moléculas huésped están físicamente atrapadas en el interior del dendrímero. Meijer y colaboradores¹³⁸ reportaron que las moléculas huésped como el Rosa bengal pueden ser físicamente atrapadas en la cavidad interna de dendrímeros de altas generaciones de PPI (poli(propilimina)), modificados en su última capa por derivados de aminoácidos voluminosos, que aumentan la densidad y rigidez de la última capa. Los dendrímeros G5-PPI pueden hospedar hasta 4 huéspedes de tamaño grande como el rosa de bengal, o de 8-10 moléculas pequeñas como el ácido *p*-nitrobenzoico. Bajo una acidólisis selectiva la superficie es abierta y las moléculas huésped son liberadas del dendrímero. En las cajas dendríticas las interacciones huésped-anfitrión no son del todo específicas pero están gobernadas por el tamaño molecular de la molécula huésped y el tamaño físico de las cavidades del hospedero. El uso de bloques de construcción naturales, tales como aminoácidos o péptidos en la superficie del dendrímero permitiría una abertura por degradación enzimática, pero el empaquetamiento del huésped se debe realizar durante el proceso de síntesis.

2.2.8b Micelas unimoleculares

La administración de medicamentos por sistemas micelares, donde el fármaco se encapsula dentro de la micela, es bien conocida. Pero cuando la concentración de la micela está por debajo de la concentración micelar crítica (CMC) el sistema es termodinámicamente inestable y libera el fármaco. Los dendrímeros con una estructura interior no polar y una superficie polar, pueden ser vistos como micelas unimoleculares, en que la parte hidrofílica e hidrofóbica están unidos covalentemente, y por lo tanto la

¹³⁶ a) J. F. G. A. Jansen, E. M. M. de Brabander van den Berg, E. W. Meijer, *Science*, **1994**, 266, 1226; b) J. F. G. A. Jansen, E. W. Meijer, E. M. M. de Brabander van den Berg, *Macromol. Symp.* **1996**, 102, 27; c) J. F. G. A. Jansen, E. M. M. de Brabander van den Berg, E. W. Meijer, *Abstr. Pap. Am. Chem. Soc.* **1995**, 210, 64; d) A. W. Bosman, J. F. G. A. Jansen, R. A. J. Janssen, E. W. Meijer, *Abstr. Pap. Am. Chem. Soc.* **1995**, 210, 181.

¹³⁷ a) J. F. G. A. Jansen, E. M. M. de Brabander van den Berg, E. W. Meijer, *Rec. Trav. Chim. Pays-Bas*, **1995**, 114, 225; b) J. F. G. A. Jansen, R. A. J. Janssen, E. M. M. de Brabander van den Berg, E. W. Meijer, *Adv. Mat.*, **1995**, 7, 561; c) J. F. G. A. Jansen, E. W. Meijer, E. M. M. de Brabander van den Berg, *J. Am. Chem. Soc.* **1995**, 117, 4417.

¹³⁸ J. F. G. A. Jansen, E. M. M. de Brabander-van den Berg, E. W. Meijer, *Science*, **1994**, 266, 1226.

estructura micelar es estática, termodinámicamente son estables a diferentes concentraciones y en una variedad de disolventes.

Los primeros trabajos reportados con este tipo de compuestos fueron los de Newkome y colaboradores¹³⁹ con los llamados ácidos micelanoicos, figura 31. Una característica especial de estos compuestos es que la estructura está completamente basada en enlaces de carbono-carbono, lo que los hace únicos entre la familia de los dendrímeros. En su superficie tienen ácidos carboxílicos, que tienen un carácter hidrofílico y garantizan su solubilidad en agua a pesar de su interior hidrofóbico, lo que los hace útiles como hospedero de compuestos hidrofóbicos.

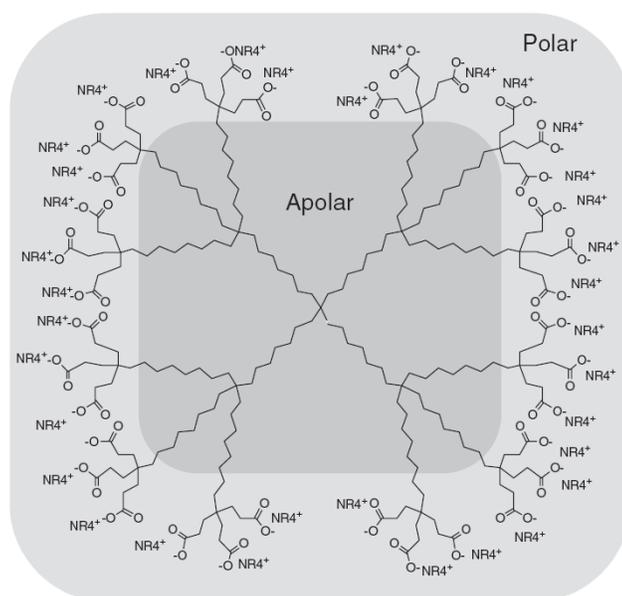


Figura 31. Estructura de un ácido micelanoico, capaz de hospedar moléculas hidrofóbicas como el naftaleno y azul de fenol

¹³⁹ a) G. R. Newkome, C. N. Moorefield, G. R. Baker, A. L. Johnson, R. K. Behera, *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1991**, 30, 1176; b) G.R. Newkome, C. N. Moorefield, G. R. Baker, M. J. Saunders, S. H. Grossman, *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1991**, 30, 1178; c) G. R. Newkome, X. F. Lin, C. Yaxiong, G. H. Escamilla, *J. Org. Chem.* **1993**, 58, 3123; d) C. N. Moorefield, G. R. Newkome, *Compt. Rend. Chim.* **2003**, 6, 715.

Frechét y colaboradores¹⁴⁰ también describieron una clase de micelas unimoleculares basadas en dendrímeros de polibencil etér, los cuales contienen en su superficie carboxilatos. Estos dendrímeros son capaces de disolver huéspedes no polares en agua, como por ejemplo el pireno, en donde la unión hospedero-huésped es mediada por las interacciones π - π entre el aril-etér rico en electrones y el huésped aromático.

El uso de dendrímeros tipo PAMAM como acarreadores de fármacos anticancerígenos, como el fluoracil han sido estudiados por Jain y colaboradores¹⁴¹ quienes también investigan el efecto de la sustitución de la periferia por polietilenglicol, ellos encontraron una significativa diferencia entre dendrímeros con terminales amino y terminales PEG, los cuales reducen la actividad hemolítica, aumentan la capacidad de carga y reducen el grado de liberación del fármaco en ensayos realizados en ratas¹⁴². Por otra parte se ha encontrado que los dendrímeros PAMAM con terminaciones hidroxilo, son solubles en agua y son capaces de unirse a antifúngicos o antibacteriales de tipo aromático¹⁴³, (figura 32), además de ser estudiados como vehículos oftálmicos para liberar compuestos como pilocarpina, tropicamida, fluoroceina, y demás fármacos usados rutinariamente para el diagnóstico¹⁴⁴.

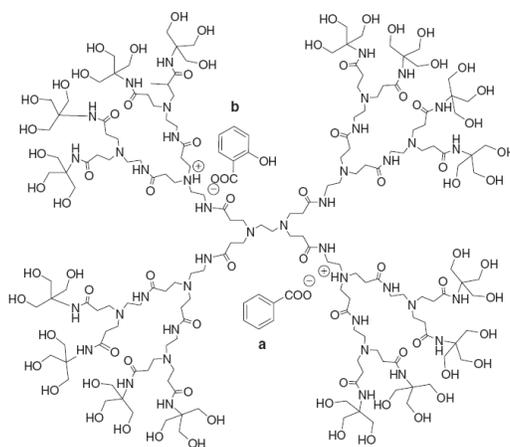


Figura 32. Dendrímero G2.5 PAMAM terminado en tris(hidroximetil)metilamida, con dos moléculas huésped, (a) ácido benzoico y (b) ácido salicílico

¹⁴⁰ C. J. Hawker, K.L. Wooley, J. M. J. Frechet, *J. Chem. Soc. Perkin Trans. 1*, **1993**, 12, 1287.

¹⁴¹ D. Bhadra, S. Bhadra, S. Jain, N. K. Jain, *Int. J. Pharm.* **2003**, 257, 111.

¹⁴² N. Malik, R. Wiwattanapatapee, R. Klopsch, K. Lorenz, H. Frey, J. W. Weener, E. W. Meijer, W. Paulus, R. Duncan, *J. Cont. Rel.* **2000**, 65, 133.

¹⁴³ L. J. Twyman, A. E. Beezer, R. Esfand, M. J. Hardy, J. C. Mitchell, *Tetrahedron Lett.* **1999**, 40, 1743.

¹⁴⁴ T. F. Vandamme, L. Brobeck, *J. Cont. Rel.* **2005**, 102, 23.

2.2.8c Interacciones no covalentes

La estrategia de encapsular moléculas huésped en dendrímeros está basada en interacciones químicas no covalentes, tales como puentes de hidrógeno, interacciones π - π , interacciones de tipo iónico, etc. tanto en el núcleo del dendrímero como en su superficie. Tal es el caso de los dendrímeros solubles en agua creados por Diederich y colaboradores¹⁴⁵, llamados "dendrofanos". Los dendrofanos tienen como centro moléculas de ciclofanos, que pueden unirse a compuestos aromáticos, presumiblemente por interacciones π - π , figura 33. Estas estructuras dendríticas han demostrado ser excelentes acarreadores de esteroides y pueden ser potencialmente usados para la liberación controlada, además de que la estabilidad de los complejos no es afectada por la generación de los dendrímeros.

Por otra parte la mayoría de los dendrímeros tienen grupos polares en su superficie, típicamente los grupos $-\text{NH}_2$ ó $-\text{COOH}$; que dan la opción de usar al dendrímero como ácido o base de la sal conjugada de un fármaco. Kannan y colaboradores¹⁴⁶ demostraron que la formación de la sal daba lugar con un fármaco ácido como el ibuprofeno y los dendrímeros G3 ó G4-PAMAM, con grupos $-\text{NH}_2$ en la superficie. La liberación *in vitro*, fue más lenta del complejo dendrímero- fármaco que la del ibuprofeno, y la entrada a las células fue mucho más rápida. Se ha estimado que aproximadamente 40 moléculas de ibuprofeno interactúan con un dendrímero G4-PAMAM a pH 10.5, causando un considerable aumento de solubilidad del fármaco. Sin embargo el sistema polication-anión no es específico, en el sentido de que cualquier anión puede unirse independientemente de su origen.

Los dendrímeros PPI tienen como grupos terminales bis- (3-aminopropil)amina, que simulan pinzas en el exterior del dendrímero, la modificación de estas terminales por amidas, ureas o tioureas, permite al sistema la formación de puentes de hidrógeno, en la superficie del dendrímero. Lo que permite la unión de diferentes tipos de moléculas huésped, un ejemplo es la unión de oxoaniones a dendrímeros PPI modificados con urea, reportado por Vögtle y colaboradores¹⁴⁷, que muestran la unión con fosfatos

¹⁴⁵ P. Wallimann, P. Seiler, F. Diederich, *Helv. Chim. Acta*, **1996**, 79, 779.

¹⁴⁶ P. Kolhe, E. Misra, R. M. Kannan, S. Kannan, M. Lieh-Lai, *Int. J. Pharm.* **2003**, 259, 143.

¹⁴⁷ H. Stephan, H. Spies, B. Johannsen, L. Klein, F. Vögtle, *Chem. Commun.*, **1999**, 1875.

biológicamente importantes como el ADP, AMP y ATP. El modo exacto de unión no ha sido investigado pero posiblemente se deba a las interacciones iónicas. Este sistema también ha servido para la unión de pertecnetato, el cual es un importante compuesto radioactivo utilizado en medicina nuclear¹⁴⁸.

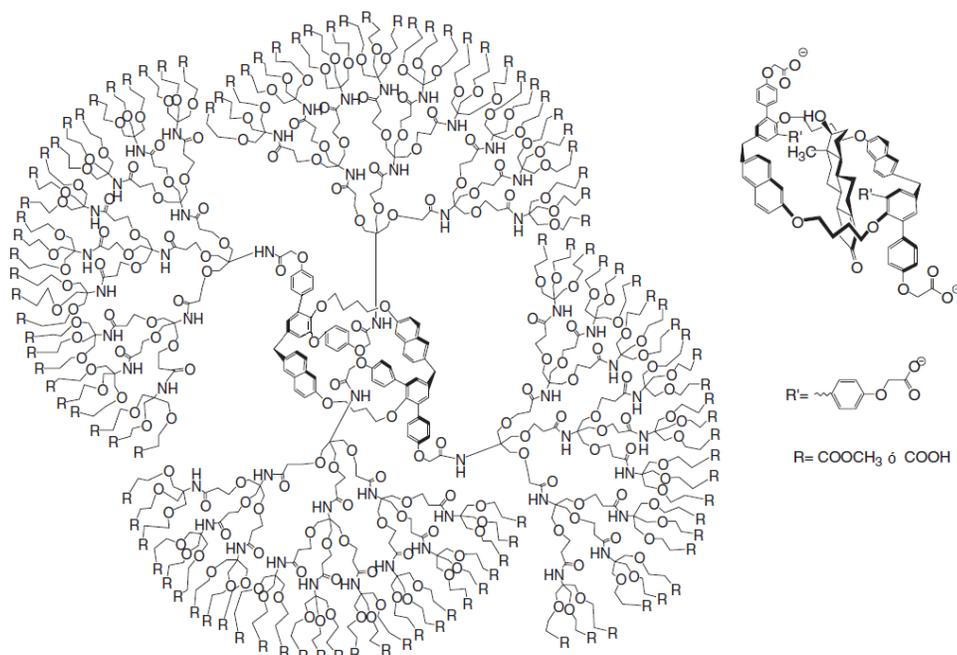


Figura 33. Estructura de los dendrofanos, moléculas capaces de hospedar esteroides

2.2.9 Conjugados fármaco-dendrímtero

La unión covalente a los grupos terminales del dendrímtero a través de enlaces hidrolizables o biodegradables ofrece la oportunidad de un gran control sobre la liberación del fármaco que el logrado por la formación de complejos huésped-anfitrión. Varias moléculas biológicamente activas tales como anticuerpos¹⁴⁹ y azúcares¹⁵⁰ han sido conjugados a las cadenas finales de los dendrímteros. En contraste muy pocos estudios han sido reportados de la formación de conjugados con fármacos. Debido a que su superficie tiene múltiple grupos funcionales una molécula de dendrímtero puede acarrear

¹⁴⁸ J. C. Sisson, *Thyroid*, **1997**, 7, 295.

¹⁴⁹ a) J. C. Roberts, *Bioconjugate Chem.* **1990**, 1, 305; b) P. Singh, *Clin. Chem.* **1994**, 10, 1845.

¹⁵⁰ a) A. D. Zanini, R. Roy, *J. Am. Chem. Soc.* **1997**, 119, 2088; b) P. R. Ashton, *Chem. Eur. J.* **1997**, 3, 974; c) J. D. Reuter, *Bioconjugate Chem.* **1999**, 10, 271.

múltiples moléculas de fármacos dependiendo de la generación del dendrímero o las condiciones de acoplamiento.

Dendrímeros basados en un núcleo de 1,4,7,10-tetrazaciclododecano tienen aminas primarias en su superficie, que pueden ser parcialmente modificadas por acilación con 1-bromoacetil-5-fluorouracilo para formar un enlace lábil de imida. La unión al dendrímero puede reducir la toxicidad del 5-fluorouracilo y permite una liberación lenta, a través de la hidrólisis en condiciones fisiológicas¹⁵¹, figura 34.

Adicionalmente dendrímeros disponibles comercialmente como los PAMAM, han sido usados como plataformas de unión covalente de fármacos, tal es el caso del trabajo reportado por Yang y Lopina¹⁵² quienes conjugaron penicilina V con dendrímeros G2.5 y G3 PAMAM, a través de un espaciador PEG, vía enlaces amida y un enlace éster con el fármaco, que provee un control en la liberación a través de la hidrólisis. La actividad microbiana de la penicilina liberada por la hidrólisis del éster del conjugado PEG-PAMAM G3 fue aproximadamente igual que el fármaco libre. Un segundo estudio por estos autores¹⁵³ involucra el conjugado formado entre el antidepresivo venlafaxina y el dendrímero aniónico G2.5 PAMAM, nuevamente por la formación de un enlace éster. Este trabajo se realizó con el fin de superar el problema del incumplimiento de la administración diaria del medicamento, ya que el conjugado completo tiene 32 sitios de unión (grupos carboxilato) que se acoplan completamente con 32 moléculas del fármaco, la formación del conjugado fué caracterizado por RMN y MALDI-TOF. El estudio de liberación *in vitro* indicó que se mantiene una liberación sostenida del fármaco por un periodo de 120 horas con aproximadamente 50% de liberación en un periodo de 18 horas. También se ha reportado la formación de conjugados con otros fármacos tales como los antiinflamatorios propranolol¹⁵⁴, ibuprofeno¹⁵⁵ anticancerígenos como el 5-fluorouracilo¹⁵⁶, doxorubicina¹⁵⁷, cisplatino¹⁵⁸, y taxol¹⁵⁹; así como el ácido fólico¹⁶⁰, y el metotrexato¹⁶⁰, etc.

¹⁵¹ R. X. Zhuo, B. Du, Z. R. Lu, *J. Cont. Rel.*, **1999**, 57, 249.

¹⁵² H. Yang, S. T. Lopina, *J. Biomater. Sci. Polym. Ed.*, **2003**, 14, 1043.

¹⁵³ H. Yang, S. T. Lopina, *J. Biomed. Mater. Res.* **2005**, 72A, 107.

¹⁵⁴ a) A. D'Emanuele, R. Jevprasesphant, J. Penny, D. Attwood, *J. Control Release*, **2004**, 95, 447; b) R. Jevprasesphant, J. Penny, D. Attwood, *J. Control Release*, **2004**, 97, 259.

¹⁵⁵ a) O. M. Milhem, H. Mobedi, N. Day, N. B. McKeown, D. Attwood, A. D' Emanuele, *Proct. Int. Symp. Control Release Bioact. Mater*, **2001**, 28, 329; b) O. M. Milhem, H. Mobedi, N. Day, N. B. McKeown, D. Attwood, A. D' Emanuele, *Polym. Mater. Sci. Eng.* **2001**, 84, 721.

¹⁵⁶ a) R. Abu-Rmailech, D. Attwood, A. D' Emanuele, *Drug. Deliv. Syst. Sci.* **2003**, 3, 65; b) R. X. Zhuo, B. Du, Z. R. Lu, *J. Control Release*, **1999**, 57, 249.

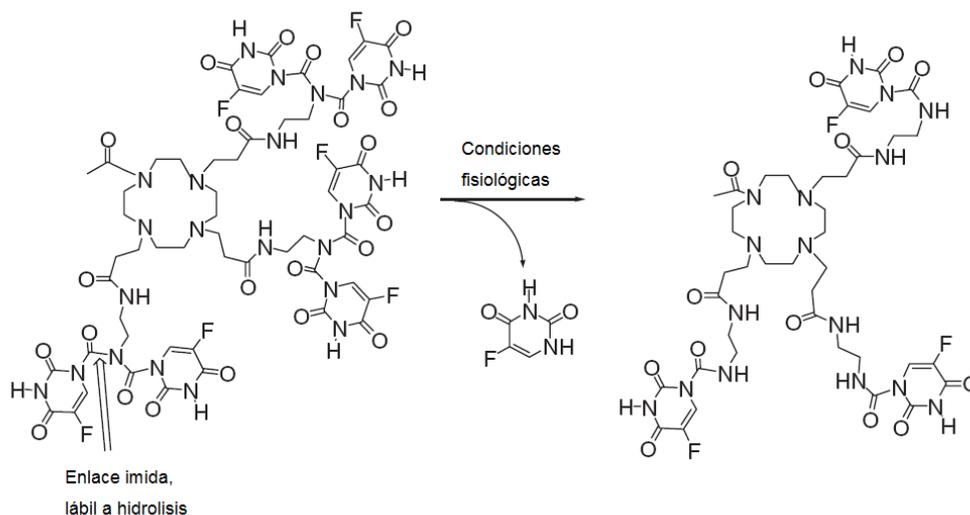


Figura 34. Dendrímtero con núcleo de 1,4,7,10-tetraazaciclododecano conjugado al 5-fluorouracilo

La formación de conjugados como acarreadores o liberadores de fármacos, resultó de gran interés para la elaboración de este trabajo, siendo uno de los objetivos la formación de conjugados dendrímtero-1,4-benzodiazepinas, dado que estos fármacos presentan una amplia gama de actividades biológicas, tal como se describe en el siguiente apartado.

2.3 BENZODIAZEPINAS

Las benzodiazepinas estructuralmente están constituidas por un anillo bencénico (A) fusionado a un anillo heptagonal 1,4- diazepínico (B), figura 35. Entre las características que aparecen en la mayoría de los compuestos, es la presencia de sustituyentes en la posición 7 (cloro, bromo, nitro), sustituyentes arilo en la posición 5 (fenilo, fenilo sustituido,

¹⁵⁷ a) H. R. Ihre, O. L. Padilla De Jesus, F. C. Szoka Jr., J. M. J. Fréchet, *Bioconjug. Chem.* **2002**, 13, 443; b) O. L. Padilla De Jesus, H. R. Ihre, F. C. Szoka Jr., *Bioconjug. Chem.* **2002**, 13, 453.

¹⁵⁸ N. Malik, E. G. Evagorou, R. Duncan, *Anti-Cancer Drugs*, **1999**, 10, 767.

¹⁵⁹ I. J. Majoros, A. Myc, T. Thomas, C. B. Mehta, J. R. Baker, *Biomacromolecules*, **2006**, 7, 572.

¹⁶⁰ a) K. Kono, L. Minjung, J. M. J. Fréchet, *Bioconjug. Chem.* **1999**, 10, 1115; b) J. Sudimack, R. J. Lee, *Adv. Drug. Deliv. Rev.* **2000**, 41, 147; c) A. Quintana, E. Raczka, L. Piehler, I. Lee, A. Myc., *Pharm. Res.* **2002**, 19, 1310.

piridilo), sustituyentes alquilo en la posición 1, una función carbonílica en 2 y algunas otras presentan anillos fusionados al sistema 1,4-benzodiazepínico^{161,162}.

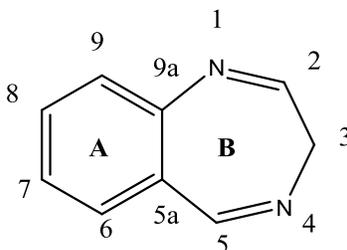


Figura 35. Estructura general de las 3H-1,4 benzodiazepinas.

2.3.1 Síntesis de benzodiazepinas

La primera síntesis de las benzodiazepinas se realizó en los 60's cuando L. H Sternbach preparó el clordiazepóxido¹⁶³ que recibió el nombre comercial de Librium, el cual resultó ser una molécula con propiedades anticonvulsivas, ansiolíticas e hipnóticos sedantes¹⁶⁴. La síntesis del clordiazepóxido **24** se inicia con la oxima de la 2-amino-5-clorobenzofenona **20** y el cloruro de cloroacetilo **21** con la finalidad de obtener una 3-oxido quinazolina **22**, la cual reacciona con la metilamina **23** y sufre una ciclación intramolecular para obtener el anillo 1,4-diazepínico, esquema 6. A partir del éxito obtenido con la síntesis del clordiazepóxido y de su actividad biológica, se buscaron nuevas estrategias¹⁶⁵ para la obtención del anillo 1,4-benzodiazepínico, como el uso de derivados de la 2-amino-5-clorobenzofenona **25** y el clorhidrato del éster de etilglicina **26** en piridina. Un ejemplo de esta estrategia es la obtención del Diazepam **27**, con propiedades ansiolíticas, miorelajantes, anticonvulsivantes y sedantes, véase esquema 7.

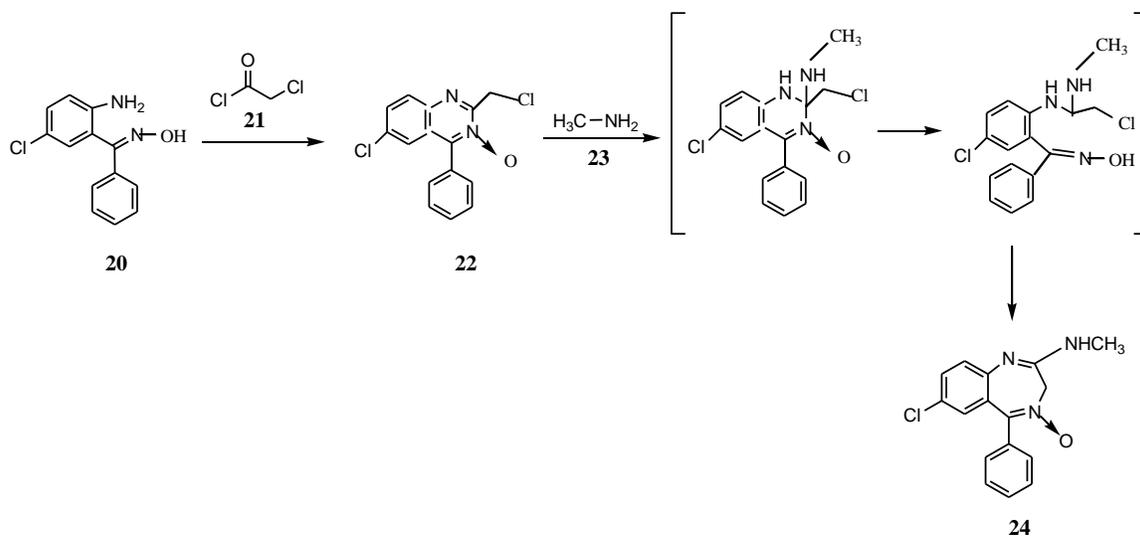
¹⁶¹ M. C. Avendaño., *Introducción a la Química Farmacéutica*, Editorial Interamericana McGraw-Hill, Madrid, España; **1993**.

¹⁶² L. H. Sternbach, L. O. Randall, R. Banzinger, H. Lehr, Medicinal Research Series, Vol.2, A. Burger, ED., Marcel Dekker, New York, N. Y., **1968**, 237.

¹⁶³ a) H. L. Sternbach, *Journal of Medicinal Chemistry*, **1979**, 22, 1; b) L. H. Sternbach, *Angew. Chem.* **1971**, 83, 70; c) L. H. Sternbach, E. Reeder, *J. Org. Chem.* **1961**, 26, 4936.

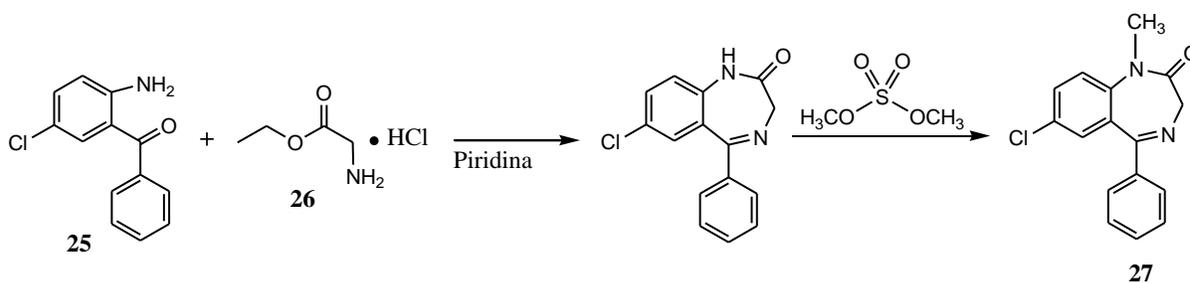
¹⁶⁴ a) L. O. Randall, *Dis. Nerv. Syst., Suppl.*, **1961**, 22, 7; b) L. O. Randall, W. Schallek, G. A. Heise, E. F. Keith, R. E. Bagdon, *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, **1960**, 129, 163.

¹⁶⁵ L. H. Sternbach, R. I. Fryer, W. Metlesics, E. Reeder, G. Sach, G. Saucy, A. Stempel, *J. Org. Chem.* **1962**, 27, 3788.

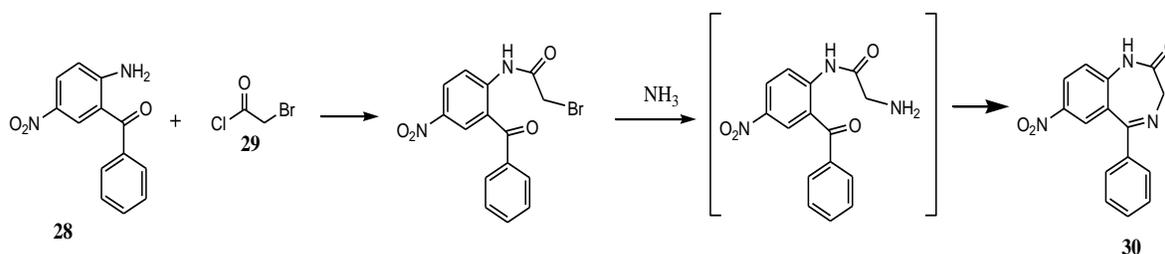


Esquema 6. Síntesis del clordiazepóxido **29**.

Otra alternativa para la obtención del anillo 1,4-benzodiazepínico involucra a los derivados de 2-amino-5-nitrobenzofenonas **28**, formando un intermediario amida con el cloruro de bromoacetilo **29** en presencia de una base, seguida de una aminación con amoniaco, el cual sufre una ciclación intramolecular, un ejemplo de esta ruta alternativa es la obtención del nitrazepam **30**, el cual posee propiedades ansiolíticas, anticonvulsivantes y sedantes, esquema 8.



Esquema 7. Síntesis del Diazepam **32**.



Esquema 8. Síntesis del Nitrazepam 35

Con base en estos métodos sintéticos se han realizado la síntesis y trabajos de investigación con el fin de mejorar la actividad biológica asociada a las benzodiazepinas a través de la modificación de su estructura, creando así una amplia familia de compuestos con mejor o diferentes actividades biológicas y con menores efectos colaterales o secundarios, véase figura 36.

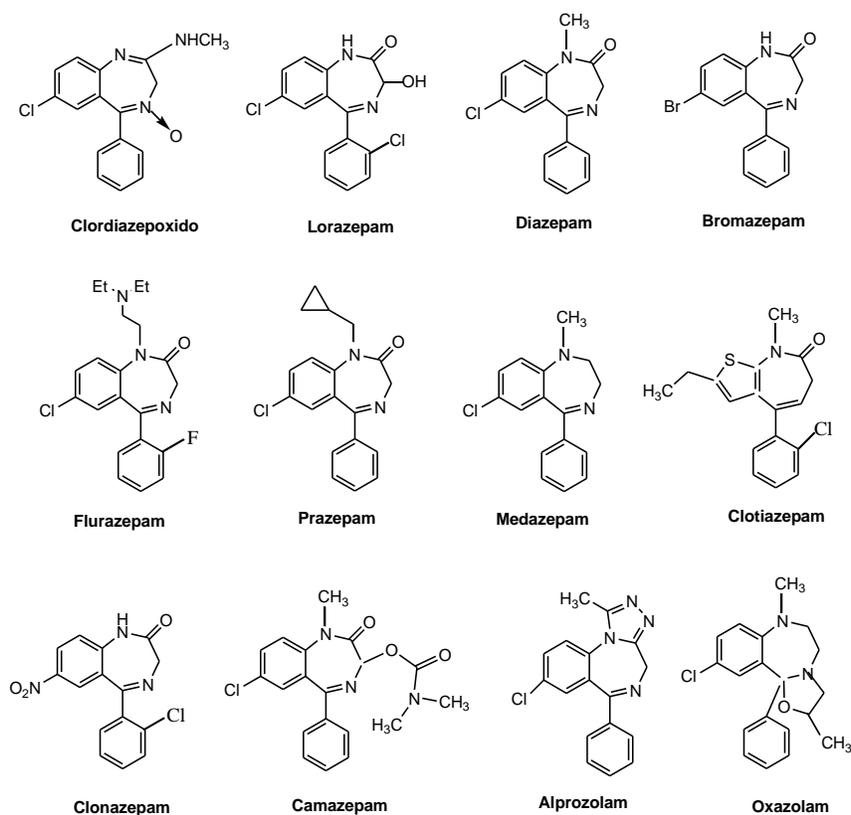


Figura 36. Estructura química de algunos derivados de 1,4-benzodiazepinas.

2.3.2. Aplicaciones de las benzodiazepinas y sus derivados

El éxito de las benzodiazepinas como agentes terapéuticos radica en su mecanismo de acción, mismo que se relaciona con un sitio de unión específico para las benzodiazepinas que se encuentra presente en el receptor $GABA_A$, véase figura 37. El cual, regula numerosas funciones neurológicas como los son: convulsiones, ansiedad, sueño, memoria y procesos de aprendizaje. Por lo anteriormente mencionado, las benzodiazepinas son empleadas en el tratamiento de enfermedades como: la ansiedad, trastornos del sueño, epilepsias, en el síndrome de abstinencia al alcohol, como relajantes musculares, como preanestésicos y anestésicos.

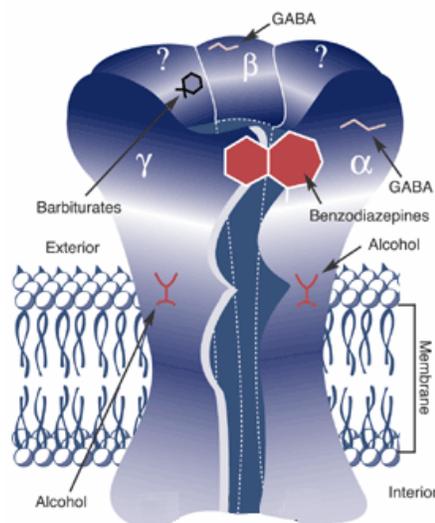


Figura 37. Receptor $GABA_A$

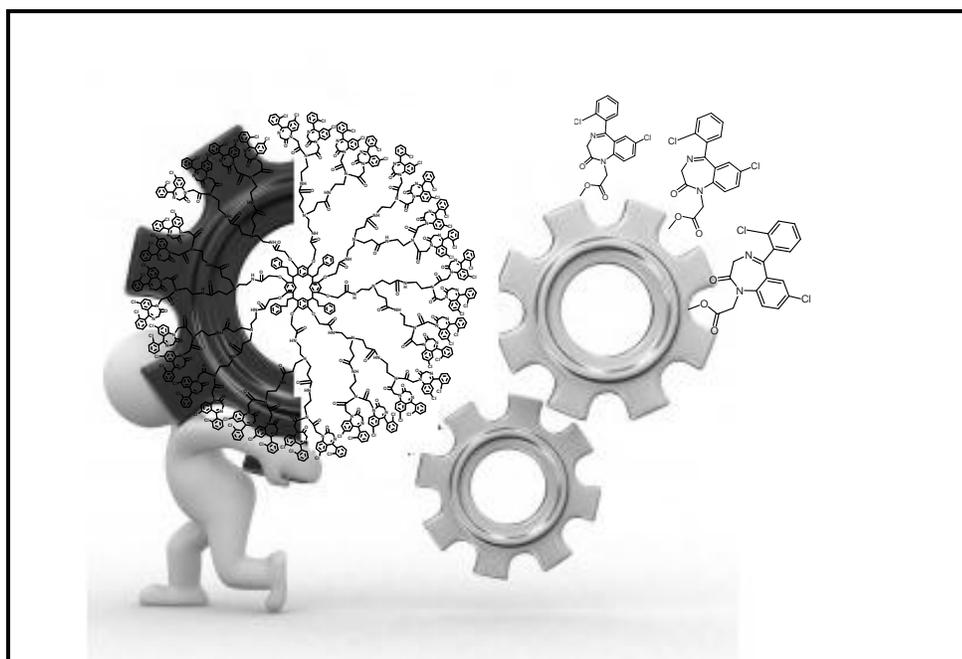
Sin embargo en años recientes se han aplicado a las benzodiazepinas no solo en el tratamiento de enfermedades relacionadas con el sistema nervioso central¹⁶⁶, sino que también, debido a las modificaciones estructurales también se les ha relacionado, en el tratamiento de enfermedades que no están relacionadas con el SNC, como el cáncer, lupus eritomatoso sistémico, agentes anti-VIH, anti arrítmicos, etc^{167 y168}.

¹⁶⁶ M. Williams, *J. Med. Chem.* **1983**, 26, 621.

¹⁶⁷ M.C Hsu, A. D. Schutt, M. Holly, L. W. Slice, M. I. Sherman, D.D. Richman, M. J. Potash, D. J. Volsky, *Science.* **1991**, 254, 1799.

Con base en lo mencionado anteriormente sobre la capacidad de los resorcinarenos de poseer ocho grupos hidroxilos colocados en posiciones que no sufren impedimentos estéricos al momento de ser funcionalizados, la capacidad para formar estructuras de alto peso molecular en una sola etapa de síntesis, así como las propiedades de los dendrímeros, los cuales permiten modificar sus propiedades físico-químicas al cambiar cualquiera de sus componentes (centro, brazos dendríticos o la periferia), y a la amplia gama de actividades biológicas de las benzodiazepinas, es que en el presente trabajo de investigación, con el objetivo de contribuir al conocimiento científico sobre el uso de los dendrímeros como acarradores o liberadores de fármacos, se realizó la síntesis de conjugados a través de enlaces amida de resorcinaren-dendrímeros G 1.0 y G 2.0 con 16 ó 32 moléculas de 1,4-benzodizepin-2-onas.

¹⁶⁸ H.G. Selnick, N.J. Liverton, J. J. Baldwin, J W. Butcher, D. A. Claremon. J. M. Elliot, R. M. Freidinger, S. A. King. B. E. Libby, C. J. McIntyre, D.A Pribush, D. C. Remy, G. R Smith, *J. Med. Chem.* **1997**, 40, 3865.



CAPÍTULO 3

OBJETIVOS

3.1 OBJETIVO GENERAL

Realizar la síntesis de conjugados entre los derivados de 1,4-benzodiazepinas y los resorcinaren-dendrímeros de primera y segunda generación, mediante la formación de enlaces amida.

3.2 OBJETIVOS PARTICULARES

1. Realizar la síntesis divergente de los resorcinaren-dendrímeros de primera y segunda generación con poliamidoamidas en su estructura.
2. Sintetizar los derivados de 1,4-benzodiazepinas a partir de las 2-aminobenzofenonas.
3. Realizar la formación de conjugados entre los derivados de 1,4-benzodiazepinas y los resorcinaren-dendrímeros de primera y segunda generación.
4. Caracterizar todos y cada uno de los compuestos obtenidos por técnicas espectroscópicas RMN de ^1H , ^{13}C , UV-vis, IR, espectrometría de masas y análisis elemental.
5. Realizar pruebas de actividad biológica de los compuestos sintetizados



CAPÍTULO 4

**EQUIPO Y
REACTIVOS**

4.1. EQUIPOS

Resonancia Magnética Nuclear

BRUCKER ADVANCE	300 MHz ^1H y 75 MHz ^{13}C .
VARIAN UNITY	300 MHz ^1H y 75 MHz ^{13}C .
Referencia	^1H Tetrametilsilano (Me_4Si , 0.00 ppm).
Disolventes	Cloroformo deuterado (CDCl_3) Metanol deuterado (D_3HCO)

Espectrofotometría de UV-Vis

Espectrofotómetro SHIMADZU UV 160 U.

Espectrofotometría de FT-IR

Espectrofotómetro FT-IR MAGNA.700

Espectrometría de Masas

Espectrómetro de masas JEOL JMS AX505 HA.

MALDI-TOF Applied Biosystems 4700 Proteomics Analyzer 34000033

Deflector Spec. No. 3.

Análisis Elemental

GALBRAITH LABORATORIES, INC.

4.2. REACTIVOS Y DISOLVENTES

Reactivos.

Resorcinol 99% (Aldrich)

Hidrocinaldehído 90 % (Aldrich)

Dodecanaldehído 92 % (Aldrich)

Ácido Clorhídrico 99% (Aldrich)

Carbonato de Potasio, 99 % (Aldrich)

Metil bromoacetato 97% (Aldrich)
Etilendiamina 99% (Aldrich)
Acrilato de metilo 99% (Aldrich)
Bromuro de bromoacetilo 98% (Aldrich)
Azida de sodio 99.5 % (Aldrich)
Trifenilfosfina 99% (Aldrich)
Piridina, 99% (Aldrich)
gel para cromatografía en columna MERK SILICA GEL 60 Å (MALLA 70-230)

Disolventes

Acetato de Etilo
Acetona
Diclorometano
Hexano
Éter Etílico
Etanol
Metanol
Piridina, 99% (Aldrich)
Benzeno (Aldrich)
Tolueno (Aldrich)

El acetato de etilo, acetona, diclorometano y hexano, fueron purificados por medio de destilación simple empleando como agente desecante hidróxido de potasio (acetato de etilo), cloruro de calcio (acetona y diclorometano) u óxido de calcio (metanol y etanol). El éter fue previamente destilado utilizando sodio como agente secante y benzofenona como indicador¹⁶⁹.

¹⁶⁹ D. D. Perrin, "Purification of Laboratory Chemicals", 3rd Edition, Pergamon Press, PLC., 1998.

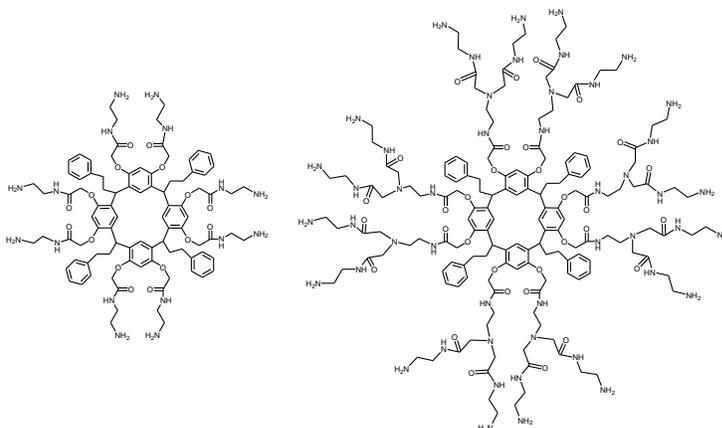


CAPÍTULO 5

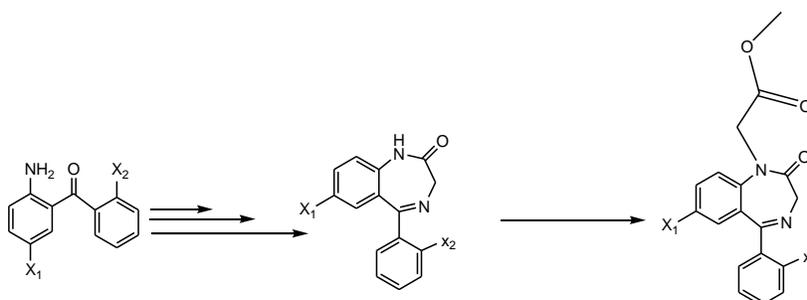
DESARROLLO EXPERIMENTAL

El desarrollo experimental se dividió en tres etapas de síntesis:

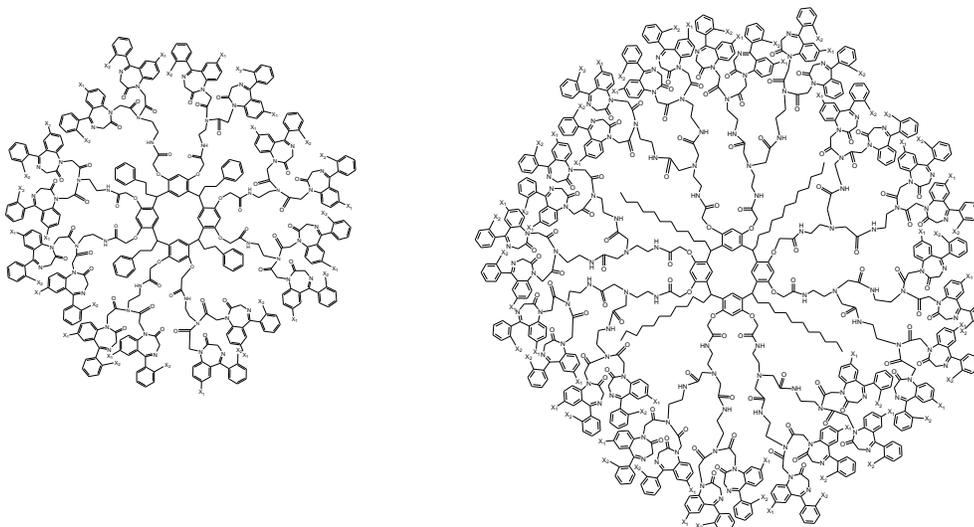
5.1. Síntesis de los resorcinaren-dendrimeros de primera y segunda generación.



5.2. Síntesis de los derivados de 1,4- benzodiazepin-2-onas a partir de la síntesis de las 2-aminobenzofenonas.



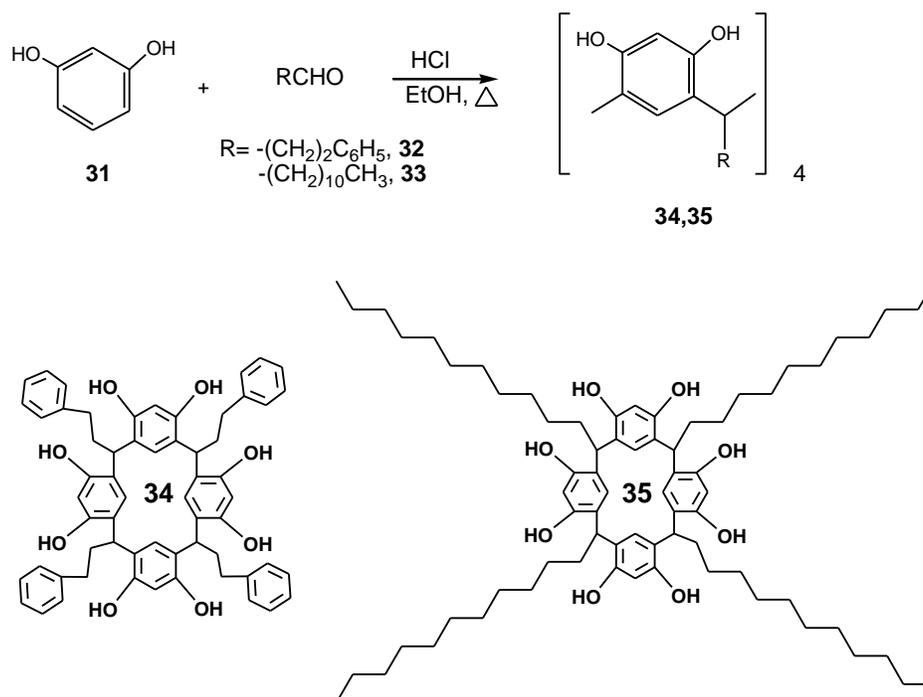
5.3. Formación de conjugados con los resorcinaren-dendrimeros G1.0 y G2.0 y los derivados 1,4-benzodiazepinicos.



5.1. SINTESIS DE RESORCINAREN-DENDRÍMEROS

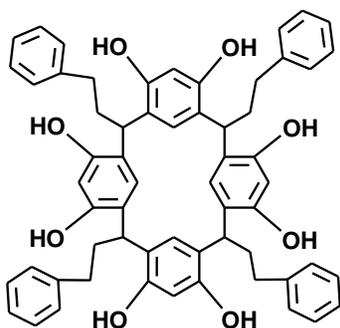
5.1.1 Obtención de resorcinarenos, centros dendríticos

3.2×10^{-2} mol de resorcinol **31** y 3.2×10^{-2} mol de hidrocinaldehído **32**, fueron disueltos en etanol (80-90 mL) y calentados a reflujo. Se adicionó gota a gota 15 mL de ácido clorhídrico, la mezcla fue mantenida a reflujo y agitación constante por 24 h. A la mezcla de reacción se le adicionó agua (50 mL), obteniéndose un precipitado de color amarillo. El producto precipitado fue filtrado y lavado con agua tres veces hasta pH neutro. Finalmente se secó a vacío, obteniéndose el compuesto **34**. (La misma metodología fue empleada para la obtención del compuesto **35**)¹²³, esquema 9.



Esquema 9

COMPUESTO 34



Rendimiento: 95 % (7.0 g).

Aspecto físico: Polvo café.

Punto de fusión: > 300 °C.

MS-ESI: m/z 904, [M⁺]

UV-vis: CH₂Cl₂, λ (nm): 286, 232

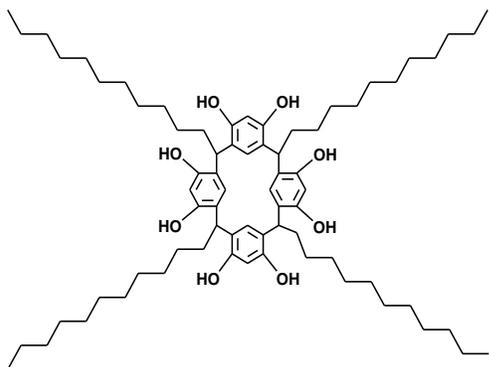
IR: (KBr, cm⁻¹): 3310, 2397, 2863, 1613, 1499, 1446, 1292, 1164, 699.

RMN ¹H: (200 MHz, CDCl₃), δ_H (ppm): 2.41 (s, 8H, CH₂), 2.52 (s, 8H, CH₂), 4.33 (t, 4H, CH, $J = 6.8$ Hz), 6.25 (s, 4H, Ar), 7.04 (s, 4H, Ar), 7.10-7.31 (m, 20H, Ar), 7.45 (sa, 8H, -OH).

RMN ¹³C: (75 MHz, CDCl₃), δ_C (ppm): 34.4 (CH₂), 35.5 (CH₂), 37.7 (CH), 104.1 (Ar), 124.7 (Ar_{ipso}), 125.3 (Ar), 126.7 (Ar), 129.3 (Ar), 129.5 (Ar), 143.6 (Ar_{ipso}), 153.2 (Ar-OH).

AE: Calculado para C₆₀H₅₆O₈: C, 79.62; H, 6.24 %.
Encontrado: C, 79.64; H, 6.22 %

COMPUESTO 35



Rendimiento: 98 % (8.82 g).

Aspecto físico: Polvo café.

Punto de fusión: > 300 °C.

MS-ESI: m/z 1104.83, [M⁺]

UV-vis: CH₂Cl₂, λ (nm): 286, 234.

IR: (KBr, cm⁻¹): 3336, 2924, 2853, 1616, 1505, 1461.

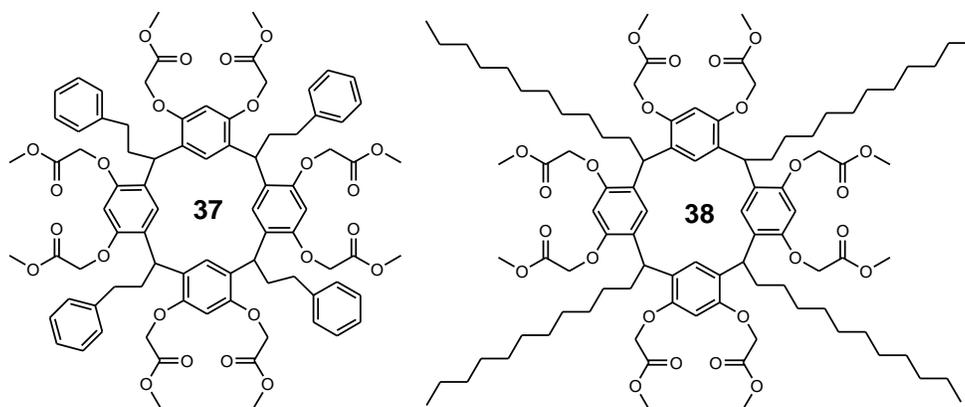
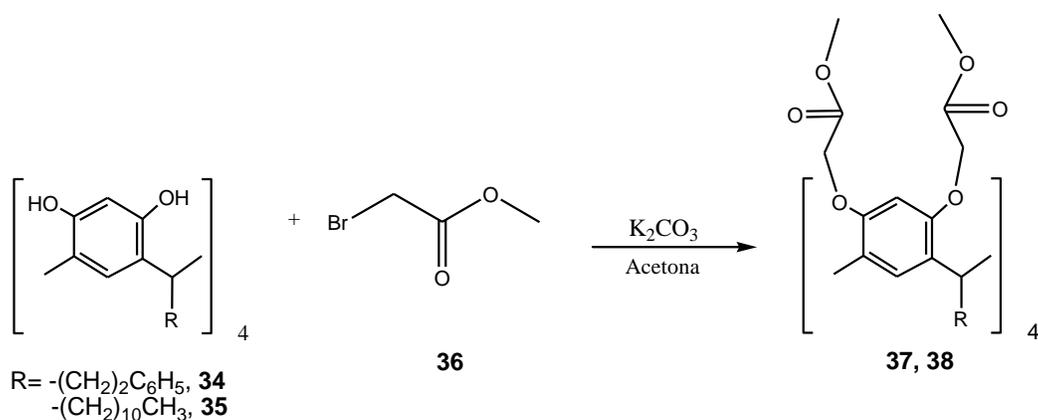
RMN ¹H: (200 MHz, CDCl₃), δ_H (ppm): 0.9 (sa, 12H, CH₃), 1.28 (sa, 80H, CH₂), 4.25 (t, 4H, CH, $J = 7.0$ Hz), 4.58 (s, 8H, OH), 6.20 (s, 4H, Ar), 7.17 (s, 4H, Ar).

RMN ¹³C: (75 MHz, CDCl₃), δ_C (ppm): 14.6 (CH₃), 23.8 (CH₂), 29.3 (CH₂), 30.6 (CH₂), 30.9 (CH₂), 33.2 (CH₂), 34.6 (CH), 104.1 (Ar), 124.6 (Ar_{ipso}), 125.5 (Ar), 153.2 (Ar-OH).

AE: Calculado para C₇₂H₁₁₂O₈: C, 78.21; H, 10.21 %.
Encontrado: C, 78.23; H 10.22 %.

5.1.2 Síntesis de resorcinaren-dendrimeros G 0.5

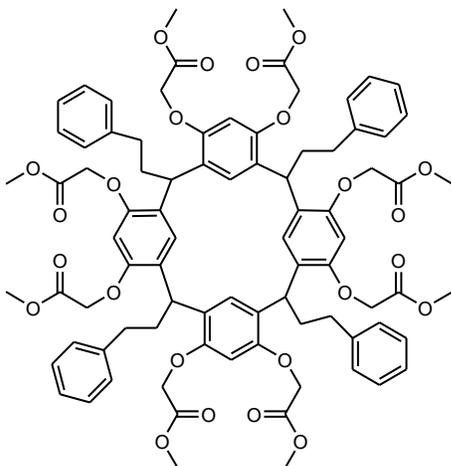
Se disolvieron 6.8×10^{-3} mol del resorcinaren **34** ó **35** y 2.1×10^{-2} mol de carbonato de potasio, en acetona anhidra. La mezcla de reacción se enfrió a $10-12^\circ\text{C}$, posteriormente se adicionó gota a gota 8.1×10^{-2} mol de metilbromoacetato **36**. La reacción se mantuvo en agitación constante y a temperatura ambiente por 24 horas. La mezcla de reacción fue filtrada, y el exceso del metilbromoacetato y disolvente, fue eliminado por evaporación¹⁷⁰. Obteniéndose el compuesto **37** o **38** como sólidos, esquema 10.



Esquema 10

¹⁷⁰ H. Jun, GE Yun, Y. Chao-guo, *Chem. Res. Chinese U.* **2006**, 22, 537.

COMPUESTO 37



Rendimiento: 93% (9.35 g)

Aspecto físico: Polvo naranja.

Punto de fusión: > 300 °C.

MS-ESI: m/z 1480.56, $[M]^+$

UV-vis: CH_2Cl_2 , λ (nm): 283, 234

IR:(KBr, cm^{-1}): 3494, 3025, 2951, 2858, 1761,1608, 1586, 1500, 1440, 1213, 1178, 1117, 1080, 817, 751, 701.

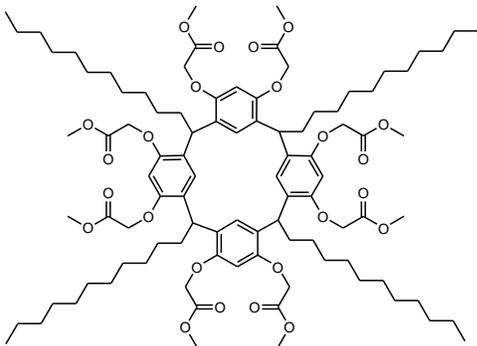
RMN ^1H : (300 MHz, CDCl_3), δ_{H} (ppm): 2.20 (sa, 8H, CH_2), 2.66 (sa, 8H, CH_2), 3.75 (s, 24H, O- CH_3), 4.28 (s, 16H, $\text{CH}_2\text{-O}$), 4.72 (t, 4H, CH, $J = 7.0$ Hz), 6.23 (s, 4H, Ar), 6,76 (s, 4H, Ar), 7.06-7.15 (m, 20H, Ar).

RMN ^{13}C : (75 MHz, CDCl_3), δ_{C} (ppm): 34.3 (CH_2), 35.58 (CH_2), 36.7 (CH), 51.9 (O- CH_3), 66.9 ($\text{CH}_2\text{-O}$), 100.5 (Ar), 125.4 (Ar), 126.2 (Ar_{ipso}), 128.0 (Ar), 128.1 (Ar), 128.3 (Ar), 142.5 (Ar_{ipso}), 154.2 (Ar-O), 169.7 (C=O).

AE: Calculado para $\text{C}_{84}\text{H}_{88}\text{O}_{24}$: C, 68.10; H, 5.99 %.

Encontrado: C, 68.09; H, 5.97 %.

COMPUESTO 38



Rendimiento: 95% (10.86 g).

Aspecto físico: Polvo blanco

Punto de fusión: > 300 °C.

MS-MALDI: 1705 m/z , $[M+\text{Na}]^+$

UV-vis: CH_2Cl_2 , λ (nm): 282, 205

IR: (KBr, cm^{-1}): 2923, 2852, 1763, 1734, 1505, 1443, 1202, 1125, 812

RMN ^1H : (300 MHz, CDCl_3), δ_{H} (ppm): 0.86 (t, 12H, CH_3 , $J = 6.8$ Hz), 1.23 (s, 56H, CH_2), 1.29 (s, 16H, CH_2), 1.83 (m, 8H, CH_2), 3.75 (s, 24H, O- CH_3), 4.27 (s, 16H, $\text{CH}_2\text{-O}$), 4.25 (t, 4H, CH, $J = 7.5$ Hz), 6.21 (s, 4H, Ar), 6.61 (s, 4H, Ar).

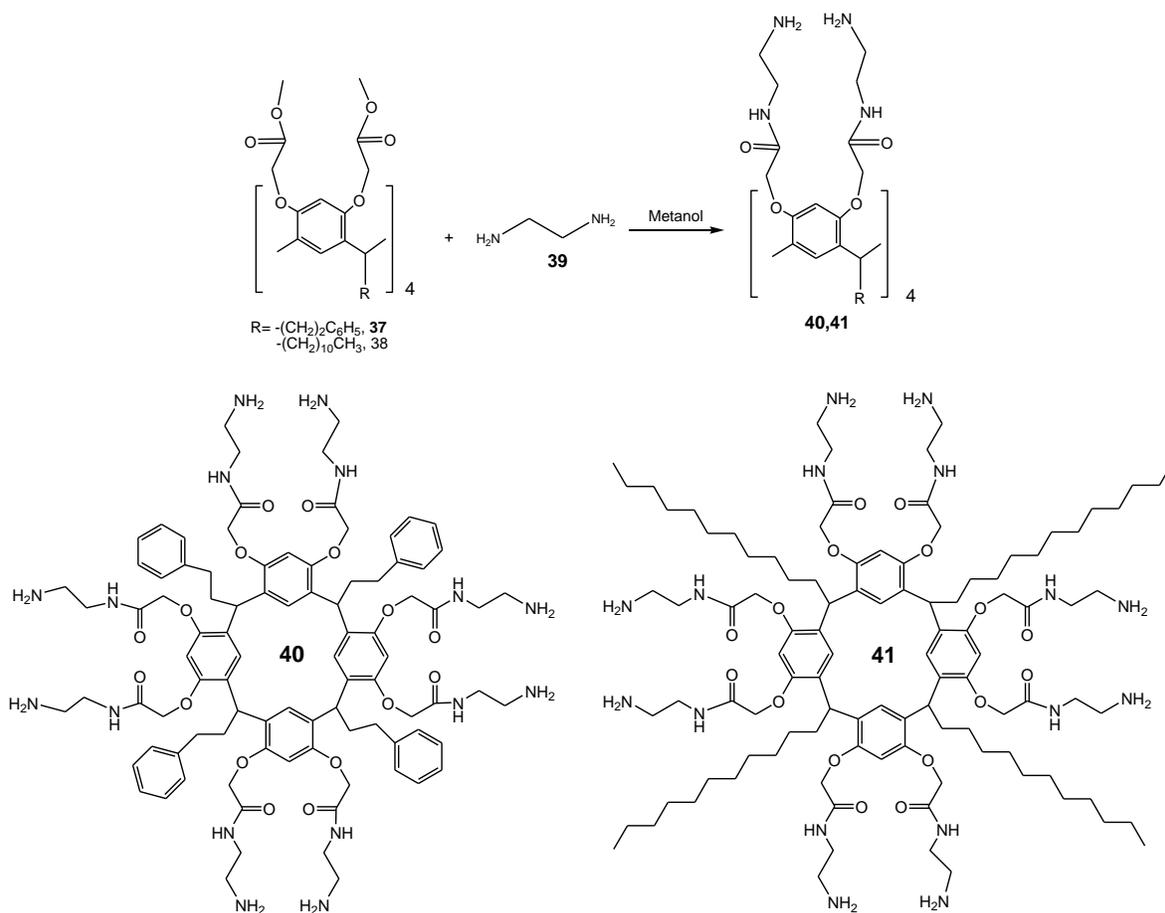
RMN ^{13}C : (75 MHz, CDCl_3), δ_{C} (ppm): 14.0 (CH_3), 22.6 (CH_2), 28.0 (CH_2), 29.3 (CH_2), 29.6 (CH_2), 29.7 (CH_2), 29.8 (CH_2), 29.9 (CH_2), 31.9 (CH_2), 34.5 (CH), 51.8 ($\text{CH}_3\text{-O}$), 67.1 ($\text{CH}_2\text{-O}$), 100.8 (Ar), 126.5 (Ar), 128.5 (Ar_{ipso}), 154.4 (Ar-O), 169.7 (C=O).

AE: Calculado para $\text{C}_{96}\text{H}_{144}\text{O}_{24}$: C, 68.54; H, 8.63%.

Encontrado: C, 68.53; H, 8.61%.

5.1.3 Síntesis de resorcinaren-dendrimeros G 1.0

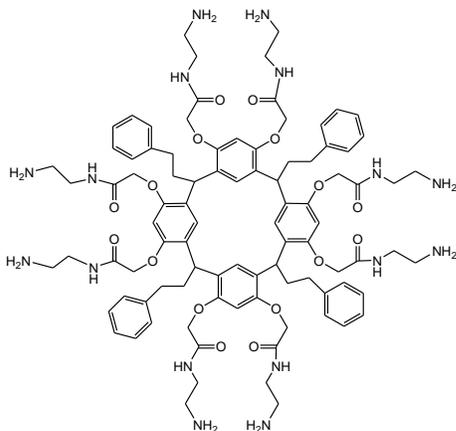
A una mezcla de metanol-tolueno 2:1 se adicionaron 2.4×10^{-3} mol del dendrimer G 0.5 (**37** ó **38**), la mezcla de reacción se enfrió a 0°C . y se adicionaron gota a gota 4.8×10^{-2} mol de etilendiamina **39**. La mezcla se mantuvo a reflujo por 24 horas en atmósfera de nitrógeno. Al término de la reacción los disolventes y el exceso de etilendiamina fueron removidos a presión reducida¹⁷¹. El residuo se lavó varias veces con etanol, obteniéndose sólidos de color beige, que corresponden a los compuesto **40** y **41**, esquema 11.



Esquema 11

¹⁷¹ I. J. Majoros, C. R. Williams, D. A. Tomalia, J. R. Baker Jr., *Macromolecules*, **2008**, 41, 8372.

COMPUESTO 40



Rendimiento: 93 % (3.80 g).

Aspecto físico: Polvo beige

Punto de fusión: > 300 °C.

MS-ESI: m/z 1704.90, $[M]^+$

UV-vis: CH₃OH, λ (nm): 281, 261, 206.

IR: (KBr, cm⁻¹): 3401, 3062, 3026, 2936, 2864, 1675, 1537, 1499, 1444, 1290, 1109, 1053, 700.

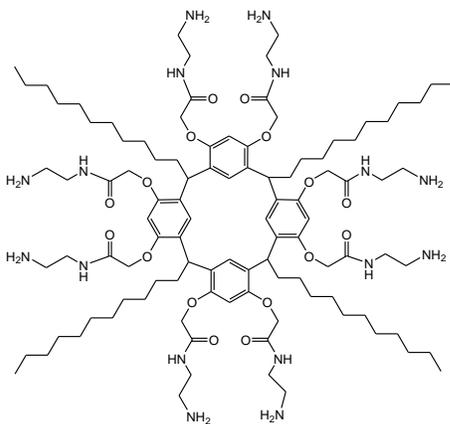
RMN ¹H: (300 MHz, CDCl₃), δ_H (ppm): 1.96 (sa, 16H, CH₂), 2.89 (s, 16H, CH₂-NH₂), 3.39 (sa, 16H, CH₂-NH), 4.37 (sa, 16H, CH₂-O), 4.47 (sa, 16H, NH₂), 4.68 (t, 4H, CH, $J=7.0$ Hz), 6.44 (s, 4H, Ar), 6.51 (s, 4H, Ar), 7.06-7.22 (m, 20H, Ar).

RMN ¹³C: (75 MHz, CDCl₃), δ_C (ppm): 30.9 (CH₂), 34.5 (CH₂), 37.2 (CH), 40.5 (CH₂-NH₂), 41.2 (CH₂-NH), 68.5 (CH₂-O), 101.2 (Ar), 125.7 (Ar), 127.2 (Ar_{ipso}), 128.4 (Ar), 128.6 (Ar), 141.6 (Ar_{ipso}), 147.9 (Ar-O), 162.3 (C=O).

AE: Calculado para C₉₂H₁₂₀N₁₆O₁₆: C, 64.77; H, 7.09; N, 13.14 %.

Encontrado: C, 64.79; H, 7.11; N, 13.15 %.

COMPUESTO 41



Rendimiento: 95 % (4.34 g).

Aspecto físico: Polvo beige

Punto de fusión: > 300 °C.

MS-ESI: m/z 1906.34, $[M]^+$

UV-vis: CH₂Cl₂, λ (nm): 281, 206.

IR: (KBr, cm⁻¹): 3401, 3062, 3026, 2936, 2864, 1675, 1537, 1499, 1290, 1109, 1053, 700.

RMN ¹H: (200 MHz, CDCl₃), δ_H (ppm): 0.86 (t, 12H, CH₃, $J=6.2$ Hz), 1.21 (sa, 72H, CH₂), 1.95 (sa, 8H, CH₂), 2.9 (sa, 16H, CH₂-NH₂), 3.4 (s, 16H, CH₂-NH), 4.58 (s, 16H, CH₂-O), 4.71 (t, 4H, CH, $J=7.0$ Hz), 5.89 (sa, 4H, NH₂), 6.49 (s, 4H, Ar), 7.25 (s, 4H, Ar).

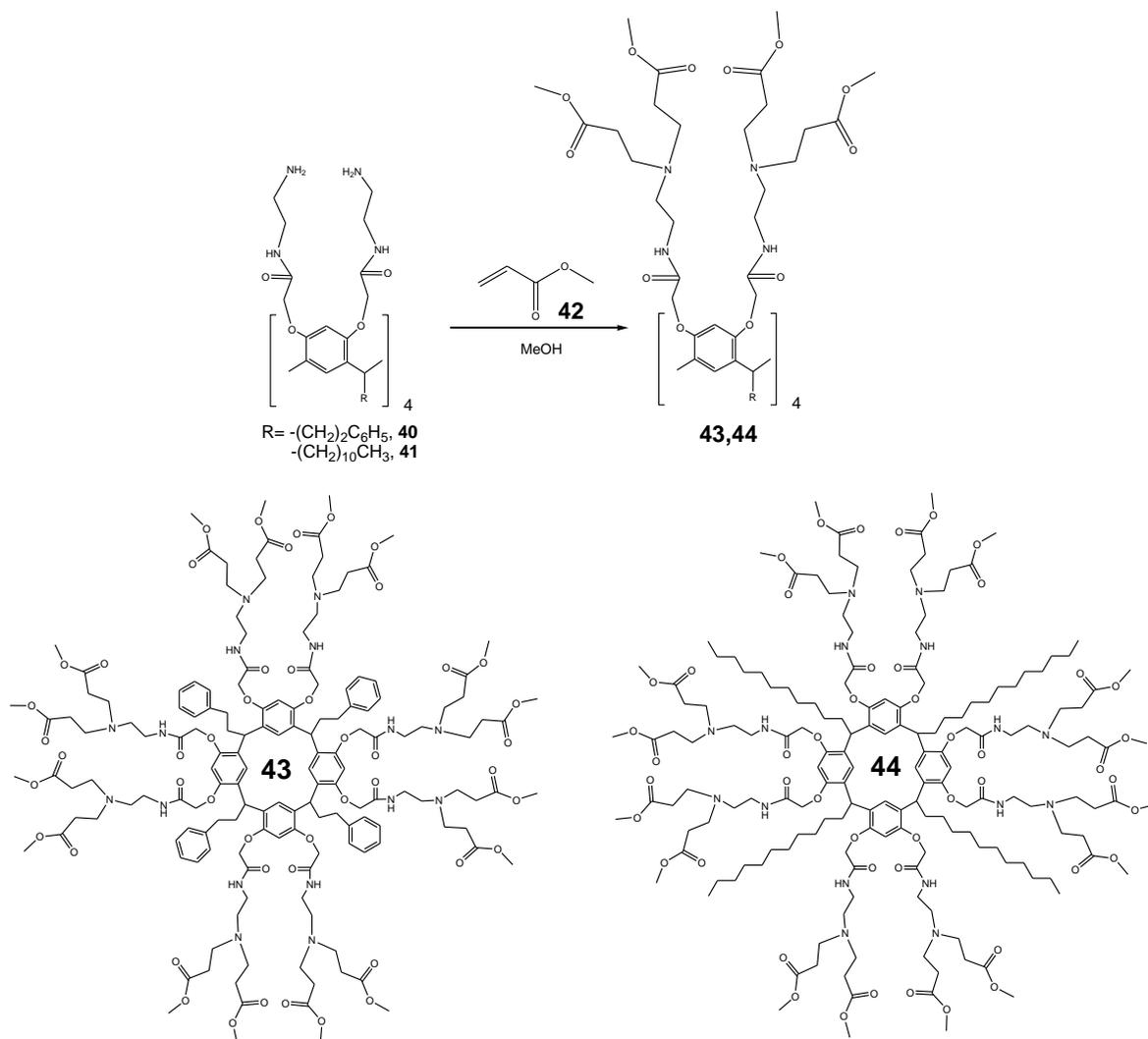
RMN ¹³C: (75 MHz, CDCl₃), δ_C (ppm): 14.0 (CH₃), 22.6 (CH₂), 29.3 (CH₂), 29.7 (CH₂), 29.8 (CH₂), 31.9 (CH₂), 34.5 (CH), 37.3 (CH₂-NH₂), 41.2 (CH₂-NH), 68.1 (CH₂-O), 99.0 (Ar), 126.8 (Ar), 129.5 (Ar_{ipso}), 154.4 (Ar-O), 168.6 (C=O).

AE: Calculado para C₁₀₄H₁₇₆N₁₆O₁₆: C, 65.51; H, 9.30; N, 11.75 %.

Encontrado: C, 65.53; H, 9.28; N, 11.76 %.

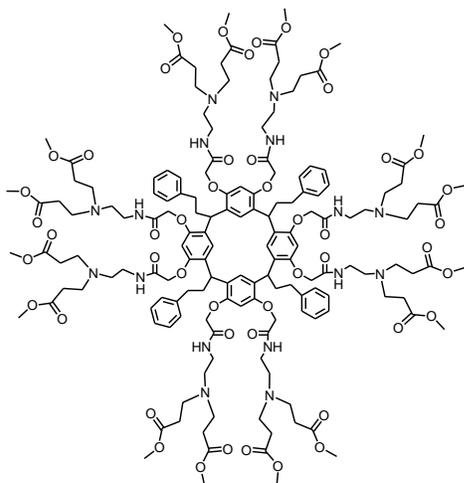
5.1.4 Síntesis de resorcinarren-dendrimeros G 1.5

2.25 x 10⁻³ mol de cada una de las amidas **40** y **41** fueron disueltas en 15 mL de metanol. La mezcla de reacción fue enfriada a 0°C, a la cual se le adicionó 7.5 x 10⁻² mol de acrilato de metilo **42**. La mezcla de reacción fue mantenida en agitación a temperatura ambiente por 48 horas. El MeOH y el exceso de acrilato de metilo fueron evaporados a 34°C, con vacío de 2000-500 µm de mercurio. Obteniéndose los compuestos **43** y **44**, esquema 12.



Esquema 12

COMPUESTO 43



Rendimiento: 80 % (5.14 g).

Aspecto físico: Polvo café claro

Punto de fusión: > 300 °C.

MS-ESI: m/z 3082.49, $[M]^+$

UV-vis: CH_2Cl_2 , λ (nm): 284, 260, 242.

IR: (KBr, cm^{-1}): 3501, 3025, 2952, 2858, 1760, 1608, 1499, 1439, 1303, 1214, 1118, 1081, 752, 701.

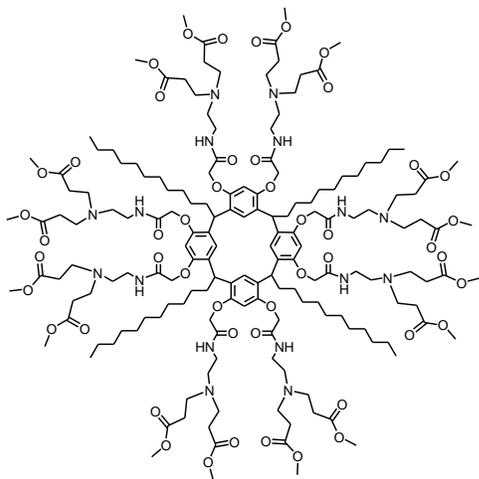
RMN ^1H : (300 MHz, CDCl_3), δ_{H} (ppm): 2.04 (s, 8H, CH_2), 2.39 (sa, 16H, $\text{CH}_2\text{-N}$), 2.57 (s, 8H, CH_2), 2.73 (s, 16H, $\text{CH}_2\text{-NH}$), 3.10 (sa, 32H, $\text{CH}_2\text{-C=O}$), 3.49 (sa, 32H, N-CH_2), 3.58 (s, 48H, $-\text{OCH}_3$), 4.42 (sa, 16H, $\text{CH}_2\text{-O}$), 4.46 (t, 4H, CH, $J=7.0$ Hz), 5.12 (sa, 8H, NH), 6.54 (s, 4H, Ar), 6.67 (s, 4H, Ar), 6.9-7.22 (m, 20H, Ar).

RMN ^{13}C : (75 MHz, CDCl_3), δ_{C} (ppm): 32.1 (CH_2), 32.5 (CH_2), 32.8 ($\text{CH}_2\text{-C=O}$), 34.2 (CH), 37.1 ($\text{CH}_2\text{-NH}$), 49.2 (N-CH_2), 51.5 (O-CH_3), 52.7 ($\text{CH}_2\text{-N}$), 68.4 ($\text{CH}_2\text{-O}$), 101.2 (Ar), 125.0 (Ar), 125.2 (Ar_{ipso}), 128.3 (3-Ar), 141.8 (Ar_{ipso}), 154.2 (Ar-O), 167.9 (C=O, 1), 172.9 (C=O, 2).

AE: Calculado para $\text{C}_{156}\text{H}_{216}\text{N}_{16}\text{O}_{48}$: C 60.77, H 7.06, N 7.27 %.

Encontrado: C, 60.78; H, 7.05; N, 7.25 %.

COMPUESTO 44



Rendimiento: 85 % (5.84 g).

Aspecto físico: Polvo café claro

Punto de fusión: > 300 °C.

MS-ESI: m/z 3282.93, $[M]^+$

UV-vis: CH_2Cl_2 , λ (nm): 282, 258, 212.

IR: (KBr, cm^{-1}): 3400, 2925, 2853, 1737, 1687, 1583, 1532, 1503, 1441, 1293, 1198, 1052, 836, 565.

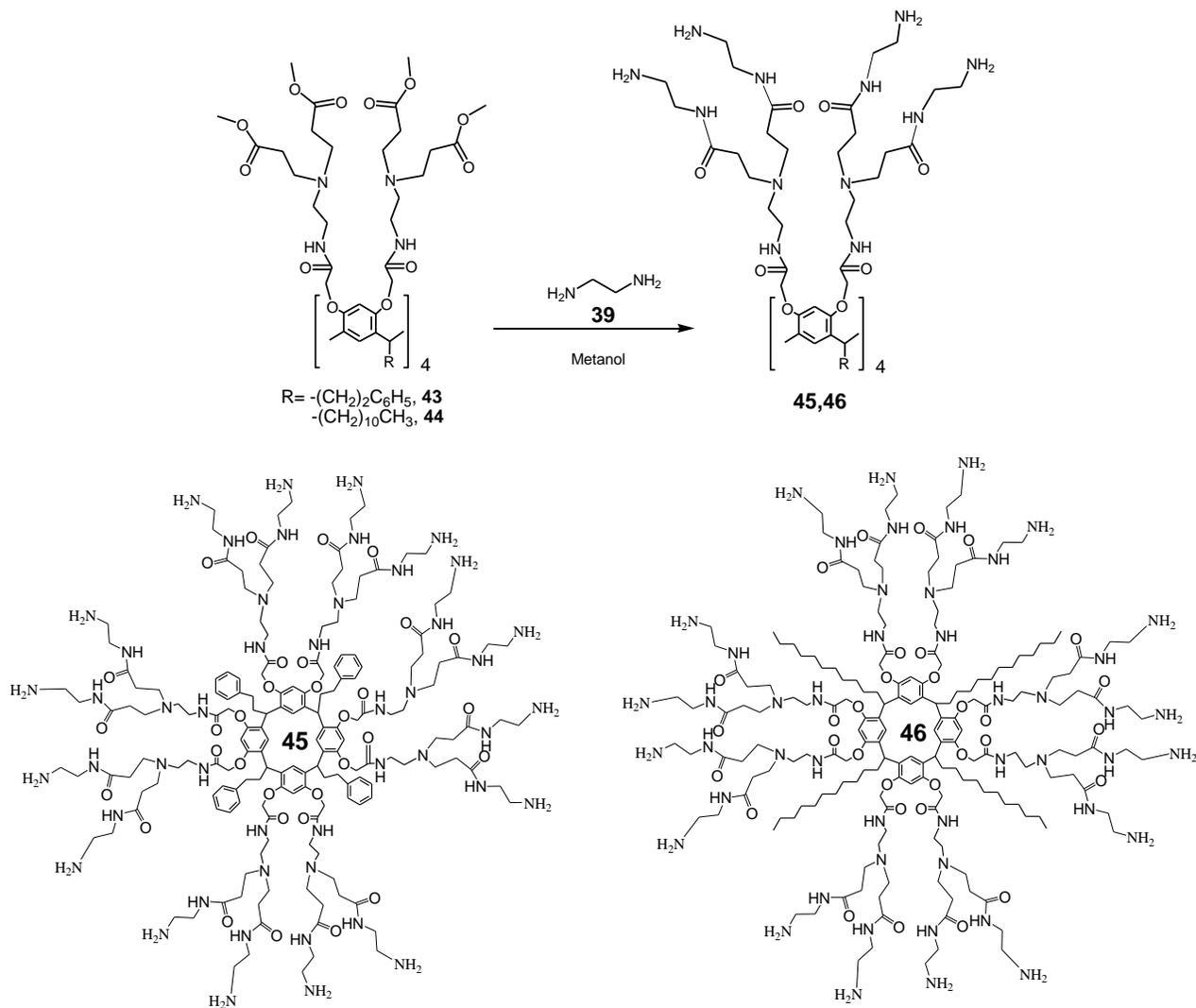
RMN ^1H : (300 MHz, CDCl_3), δ_{H} (ppm): 0.83 (t, 12 H, CH_3 , $J=7.2$ Hz), 1.20 (s, 16H, CH_2), 1.25 (s, 40H, CH_2), 1.34 (s, 24H, CH_2), 2.40 (sa, 32H, $\text{CH}_2\text{-C=O}$), 2.60 (sa, 16H, $\text{CH}_2\text{-N}$), 2.75 (sa, 32H, N-CH_2), 3.50 (sa, 16H, $\text{CH}_2\text{-NH}$), 3.62 (s, 48H, $-\text{OCH}_3$), 4.5 (sa, 16H, $\text{CH}_2\text{-O}$), 4.69 (sa, 4H, CH), 6.97 (s, 4H, Ar), 7.18 (s, 4H, Ar).

RMN ^{13}C : (75 MHz, CDCl_3), δ_{C} (ppm): 14.1 (CH_3), 22.6 (CH_2), 28.6 (CH_2), 29.4 (CH_2), 29.7 (CH_2), 29.9 (CH_2), 30.3 (CH_2), 31.9 ($\text{CH}_2\text{-C=O}$), 32.6 (CH_2), 36.7 ($\text{CH}_2\text{-NH}$), 37.2 (CH), 49.3 (N-CH_2), 51.54 ($-\text{OCH}_3$), 52.7 ($\text{CH}_2\text{-N}$), 67.9 ($\text{CH}_2\text{-O}$), 98.1 (Ar), 125.8 (Ar), 128.3 (Ar_{ipso}), 155.4 (Ar-O), 169.7 (C=O, 1), 173.2 (C=O, 2).

AE: Calculado para $\text{C}_{168}\text{H}_{272}\text{N}_{16}\text{O}_{48}$: C, 61.44; H, 8.35; N, 6.82%. Encontrado: C, 61.45; H, 8.36; N, 6.81%.

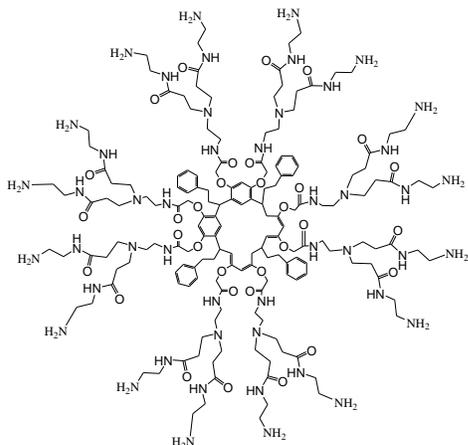
5.1.5 Síntesis de resorcinaren-dendrímtero G 2.0

A partir de 1.73×10^{-3} mol de los dendrímeros G1.5 (**43** ó **44**) y 9.6×10^{-2} mol de etilendiamina **39**, se siguió la metodología empleada para la obtención de los dendrímeros G 1.0. Se obtuvieron los compuestos **45** y **46**; esquema 13.



Esquema 13

COMPUESTO 45



Rendimiento: 89 % (5.1 g)

Aspecto físico: Polvo café claro

Punto de fusión: > 300 °C.

MS-ESI: m/z 3521. 19, [M⁺]

UV-vis: CH₂Cl₂, λ (nm): 281, 261, 206

IR (KBr, cm⁻¹): 3396, 3057, 3026, 2934, 2849, 1663, 1628, 1537, 1499, 1444, 1302, 1280, 1195, 1102, 1053, 761, 705.

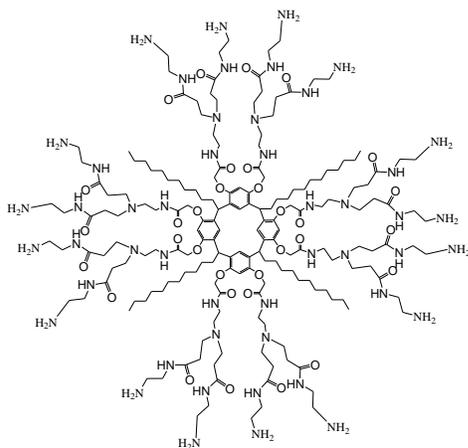
RMN ¹H: (300 MHz, CDCl₃), δ_H (ppm): 2.34 (sa, 8H, CH₂), 2.59 (sa, 16H, CH₂-N), 2.74 (sa, 8H, CH₂), 2.97 (s, 32H, CH₂-NH₂), 3.01 (s, 32H, CH₂-NH), 3.1 (sa, 32H, N-CH₂), 3.23 (sa, 32H, CH₂-C=O), 3.46 (sa, 16H, CH₂-NH), 4.44 (sa, 16H, CH₂-O), 4.80 (t, 4H, CH, *J* = 7.0 Hz), 6.43 (s, 4H, Ar), 6.50 (s, 4H, Ar), 7.06-7.22 (m, 20H, Ar).

RMN ¹³C: (75 MHz, CDCl₃), δ_C (ppm): 32.23 (N-CH₂), 33.9 (CH₂), 34.4 (CH₂), 37.2 (CH), 40.9 (CH₂-NH), 41.7 (CH₂-NH₂), 43.6 (CH₂-NH), 45.6 (CH₂-N), 52.2 (N-CH₂), 67.2 (CH₂-O), 101.2 (Ar), 125.9 (Ar), 126.7 (Ar_{*ipso*}), 127.4 (Ar), 128.4 (Ar), 141.8 (Ar_{*ipso*}), 154.9 (Ar-O), 169.3 (C=O, 1), 173.6 (C=O, 2).

AE: Calculado para C₁₇₁H₂₈₂N₄₈O₃₂: C, 58.21; H, 8.07; N, 19.09 %.

Encontrado: C, 58.19; H, 8.08; N 19.10 %.

COMPUESTO 46



Rendimiento: 90 % (5.4 g)

Aspecto físico: Polvo café oscuro

Punto de fusión: > 300 °C.

MS-ESI: m/z 3745.63, [M⁺].

UV-vis: CH₂Cl₂, λ (nm): 281, 206.

IR (KBr, cm⁻¹): 3401, 3058, 3070, 2929, 2864, 1672, 1545, 1499, 1286, 1106, 1055, 759.

RMN ¹H: (300 MHz, CDCl₃), δ_H (ppm): 0.87 (s, 12H, CH₃), 1.23 (s, 80H, CH₂), 2.36 (sa, 16H, CH₂-N), 2.77 (sa, 32H, CH₂-NH₂), 3.02 (sa, 32H, CH₂-NH), 3.27 (sa, 32H, CH₂-C=O), 3.36 (sa, 16H, CH₂-NH), 4.57 (sa, 16H, CH₂-O), 4.71 (t, 4H, CH, *J* = 7.0 Hz), 5.96 (sa, 32H, NH₂), 6.37 (s, 4H, Ar), 7.25 (s, 4H, Ar).

RMN ¹³C: (75 MHz, CDCl₃), δ_C (ppm): 14.1 (CH₃), 22.7 (CH₂), 29.5 (CH₂), 29.8 (CH₂), 29.9 (CH₂), 31.2 (CH₂), 34.0 (CH), 37.6 (CH₂-NH), 41.1 (CH₂-NH₂), 41.9 (CH₂-NH), 50.4 (CH₂-N), 52.5 (CH₂-C=O), 68.9 (CH₂-O), 96.4 (Ar), 124.4 (Ar), 127.1 (Ar_{*ipso*}), 154.7 (Ar-O), 169.2 (C=O, 1), 173.7 (C=O, 2).

AE: Calculado para C₁₈₅H₃₃₈N₄₈O₃₂: C, 59.30; H, 9.09; N, 17.94 %.

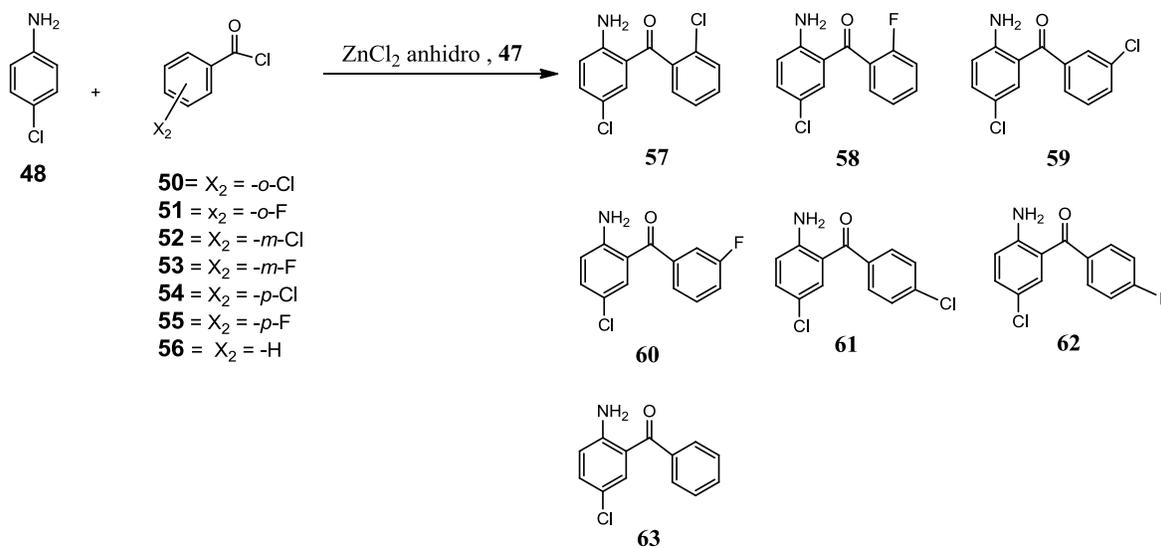
Encontrado: C, 59.31; H 9.11; N, 17.95 %.

5.2 Síntesis de 1,4-benzodiazepin-2-onas

5.2.1a Síntesis de 2-amino-5-clorobenzofenonas

A 4.2×10^{-2} mol del cloruro de benzoilo **50-56**, se le adicionaron 1.6×10^{-2} mol de *p*-cloroanilina **48**. La mezcla fue calentada alrededor de 180-200 °C, posteriormente se adicionaron lentamente 2.0×10^{-2} mol de ZnCl₂ anhidro **47**, se incrementó la temperatura gradualmente hasta alcanzar 220-230 °C. La mezcla de reacción fue mantenida a reflujo por 3 h. Enseguida fue enfriada a 120 °C, adicionando agua caliente para remover el ácido benzoico, obteniendo un producto sólido café-verdoso.

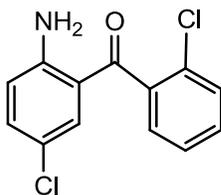
Al producto obtenido se le adicionó la mezcla H₂SO₄, CH₃COOH, y H₂O (5.0: 3.5: 3.0 mL), dejando a reflujo por 40 min. Enseguida fueron adicionados de 20-25 mL de mezcla hielo-agua, la mezcla de reacción fue extraída con diclorometano. La fase orgánica fue lavada con agua 3 veces y neutralizada con una solución de hidróxido de amonio al 10%. La fase orgánica se secó con sulfato de sodio anhidro y concentrada a vacío¹⁷². El producto de reacción se purificó por cromatografía en columna (SiO₂) usando como eluyente mezcla 2:1 de acetato de etilo: hexano, esquema 14.



Esquema 14

¹⁷² a) E. C. Cortés, R. F. Salazar, O. M. García, *J. Heterocyclic Chem.* **2001**, 38, 663; b) E. C. Cortés, I. M. Ebromares, O. M. García, *J. Heterocyclic Chem.* **2002**, 39, 1189.

COMPUESTO 57



Rendimiento: 75 % (3.18 g)

Aspecto físico: Sólido amarillo.

Punto de fusión: 87-89°C.

IE: m/z 265, $[M^+]$

UV-vis: EtOH, λ (nm): 350, 235, 204.

IR: (KBr, cm^{-1}): 3437, 3327, 1618, 1591, 1534, 1468, 1238, 1153, 943, 756.

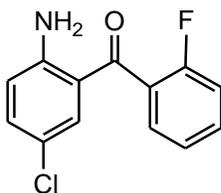
RMN 1H : (300 MHz, $CDCl_3$), δ_H (ppm): 5.6 (sa, 2H, NH_2), 6.71 (d, 1H, Ar-3, $J=8.8$ Hz), 7.11 (d, 1H, Ar-3', $J=2.2$ Hz), 7.25 (dd, 1H, Ar-4', $J=2.6$ y 4.8 Hz), 7.30-7.34 (m, 1H, Ar-6'), 7.36-7.39 (m, 1H, Ar-5'), 7.40 (dd, 1H, Ar-4, $J=8.9$ y 2.0, Hz), 7.41-7.49 (m, 1H, Ar-6).

RMN ^{13}C : (75 MHz, $CDCl_3$), δ_C (ppm): 118.2 (Ar-1), 118.6 (Ar-3), 120.3 (Ar-5), 126.8 (Ar-5'), 128.3 (Ar-3'), 130.0 (Ar-6), 133.0 (Ar-2'), 133.1 (Ar-4'), 135.2 (Ar-4), 138.9 (Ar-2), 149 (C=O).

AE: Calculado para $C_{13}H_9Cl_2NO$: C, 58.67; H, 3.41; N, 5.26%.

Encontrado: C, 58.66; H, 3.40; N, 5.25%.

COMPUESTO 58



Rendimiento: 78 % (3.10 g).

Aspecto físico: Sólido amarillo

Punto de fusión: 63-65 °C.

IE: m/z 249, $[M^+]$

UV-vis: EtOH, λ (nm): 235, 214, 205

IR: (KBr, cm^{-1}): 3443, 3333, 1619, 1539, 1455, 1318, 1299, 1239, 1215, 1150, 947, 755.

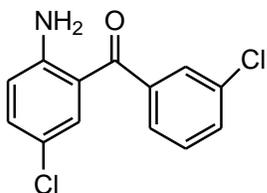
RMN 1H : (300 MHz, $CDCl_3$), δ_H (ppm): 5.9 (sa, 2H, NH_2), 6.71 (d, 1H, Ar-3, $J=9.0$ Hz), 7.12 (d, 1H, Ar-3', $J=0.8$ Hz), 7.17 (t, 1H, Ar-5', $J=1.1$ Hz), 7.22-7.29 (m, 1H, Ar-4'), 7.39 (dd, 1H, Ar-4, $J=8.1, 1.4$ Hz), 7.44-7.49 (m, 1H, Ar-6), 7.51-7.56 (m, 1H, Ar-6').

RMN ^{13}C : (75 MHz, $CDCl_3$), δ_C (ppm): 116.0, 116.4 (Ar-1), 118.7 (Ar-3), 119.0, 120.6 (Ar-3'), 124.2, 124.3 (Ar-5'), 127.6, 127.9 (Ar-1'), 129.4 (Ar-5), 129.6, 129.7 (Ar-6'), 132.1, 132.3 (Ar-6), 133.0 (Ar-4'), 135.0 (Ar-4), 148.8 (Ar-2'), 156.5 (Ar-2), 161.5 (Ar-2'), 194.3 (C=O).

AE: Calculado para $C_{13}H_9ClFNO$: C, 62.54; H, 3.63; N, 5.61 %.

Encontrado: C, 62.53; H, 3.63; N, 5.60 %.

COMPUESTO 59



Rendimiento: 42 % (1.78 g)

Aspecto físico: Sólido amarillo

Punto de fusión: 100-102°C.

IE: m/z 265, $[M^+]$

UV-vis: EtOH, λ (nm): 393, 232, 225, 215.

IR: (KBr, cm^{-1}): 3441, 3332, 1729, 1653, 1594, 1524, 1466, 1397, 1100, 907, 825.

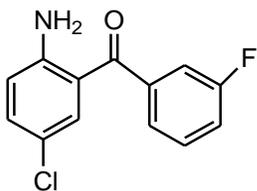
RMN 1H : (200 MHz, $CDCl_3$), δ_H (ppm): 5.78 (sa, 2H, NH_2), 6.61 (d, 1H, Ar-3, $J=8.8$ Hz), 7.11 (dd, 1H, Ar-4, $J=8.8$ y 2.2 Hz), 7.41-7.49 (m, 1H, Ar-6), 7.50-7.52 (m, 1H, Ar-5'), 7.55-7.57 (m, 1H, Ar-4'), 7.68-7.71 (m, 1H, Ar-6'), 7.83 (s, 1H, Ar-2').

RMN ^{13}C : (75 MHz, $CDCl_3$), δ_C (ppm): 117.9 (Ar-1), 118.6 (Ar-3), 126.9 (Ar-6), 127.3 (Ar-5), 128.3 (Ar-6'), 129.9 (Ar-5'), 131.8 (Ar-2'), 132.3 (Ar-5), 132.8 (Ar-4'), 134.7 (Ar-3'), 139.8 (Ar-1'), 155.3 (Ar-2), 191.7 (C=O).

AE: Calculado para $C_{13}H_9Cl_2NO$: C 58.67; H, 3.41; N, 5.26 %.

Encontrado: C, 58.68; H, 3.40; N, 5.25 %.

COMPUESTO 60



Rendimiento: 48 % (1.91 g)

Aspecto físico: Sólido amarillo

Punto de fusión: 106-108 °C.

IE: m/z 249, $[M^+]$

UV-vis: EtOH, λ (nm): 393, 239, 216, 204

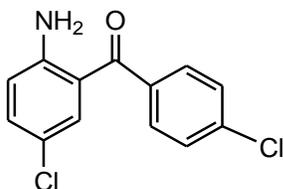
IR: (KBr, cm^{-1}): 3462, 3348, 1630, 1580, 1540, 1471, 1436, 1243, 1162, 769, 523

RMN 1H : (300 MHz, $CDCl_3$), δ_H (ppm): 6.00 (sa, 2H, NH_2), 6.70 (d, 1H, Ar-3, $J = 8.8$ Hz), 7.18 (t, 1H, Ar-5', $J = 1.1$ Hz), 7.26 (dd, 1H, Ar-4, $J = 8.5$ y 1.4 Hz), 7.37-7.38 (m, 1H, Ar-6), 7.66 (d, 2H, Ar-6'), 7.68 (d, 1H, Ar-2').

RMN ^{13}C : (75 MHz, $CDCl_3$), δ_C (ppm): 115.1, 115.7 (Ar-2',4'), 118.5 (Ar-3), 120.0 (Ar-1), 121.6, 121.7 (Ar-6'), 122.8 (Ar-6), 123.0 (Ar-5), 132.5, 132.8 (Ar-5'), 134.2 (Ar-4), 135.4, 135.7 (Ar-1'), 154.2 (Ar-2), 163.1, 166.4 (Ar-3'), 196.3 (C=O).

AE: Calculado para $C_{13}H_9ClFNO$: C, 62.54; H, 3.63; N, 5.61 %.
Encontrado: C, 62.53; H, 3.63; N, 5.60 %.

COMPUESTO 61



Rendimiento: 38 % (1.61 g).

Aspecto físico: Sólido amarillo

Punto de fusión: 100-102 °C.

IE: m/z 265, $[M^+]$

UV-vis: EtOH, λ (nm): 394, 235, 204

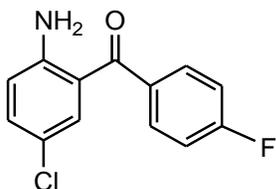
IR: (KBr, cm^{-1}): 3435, 3322, 1616, 1590, 1530, 1466, 1294, 1152, 940, 754, 633, 498

RMN 1H : (300 MHz, $CDCl_3$), δ_H (ppm): 5.82 (sa, 2H, NH_2), 6.77 (d, 1H, Ar-3, $J = 8.8$ Hz), 7.26 (dd, 1H, Ar-4, $J = 8.9$ y 2.6 Hz), 7.41 (d, 1H, Ar-6, $J = 2.4$ Hz), 7.45-7.48 (m, 1H, Ar-5'), 7.52-5.55 (m, 1H, Ar-3'), 7.62 (d, 1H, Ar-2', $J = 2.0$ Hz), 7.63-7.67 (m, 1H, Ar-6').

RMN ^{13}C : (75 MHz, $CDCl_3$), δ_C (ppm): 112.6 (Ar-1), 117.2 (Ar-3), 126.4 (Ar-5), 127.7 (Ar-6), 128.7 (Ar-3',5'), 131.8 (Ar-2',6'), 136.9 (Ar-1'), 137.7 (Ar-4), 138.7 (Ar-4'), 154.3 (Ar-2), 195.4 (C=O).

AE: Calculado para $C_{13}H_9Cl_2NO$: C, 58.67; H, 3.41; N, 5.26 %.
Encontrado: C, 58.68; H, 3.41; N, 5.25 %.

COMPUESTO 62



Rendimiento: 45 % (1.79 g).

Aspecto físico: Sólido amarillo

Punto de fusión: 106-108 °C.

IE: m/z 249, $[M^+]$

UV-vis: EtOH, λ (nm): 391, 237, 218, 205.

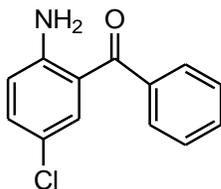
IR: (KBr, cm^{-1}): 3426, 3321, 2924, 2854, 1624, 1598, 1538, 1469, 1240, 1154, 748, 527.

RMN 1H : (300 MHz, $CDCl_3$), δ_H (ppm): 6.00 (sa, 2H, NH_2), 6.70 (d, 1H, Ar-3, $J = 9.0$ Hz), 7.13-7.19 (m, 2H, Ar-3', 5'), 7.20-7.36 (m, 1H, Ar-6), 7.36 (dd, 1H, Ar-4, $J = 8.8$ y 2.4 Hz), 7.67-7.69 (m, 2H, Ar-2', 6').

RMN ^{13}C : (75 MHz, $CDCl_3$), δ_C (ppm): 115.3 (Ar-3'), 115.6 (Ar-5'), 118.4 (Ar-3), 118.7 (Ar-5), 120.0 (Ar-1), 131.6 (Ar-2', 6'), 132.8 (Ar-6), 134.2 (Ar-4), 135.4 (Ar-1'), 149.2 (Ar-2), 164.7 (Ar-4'), 196.3 (C=O).

AE: Calculado para $C_{13}H_9ClFNO$: C, 62.54; H, 3.63; N, 5.61 %.
Encontrado: C, 62.53; H, 3.63; N, 5.60 %.

COMPUESTO 63



Rendimiento: 68 % (2.51 g).

Aspecto físico: Sólido amarillo

Punto de fusión: 86-88 °C.

IE: m/z 231, $[M^+]$

UV-vis: EtOH, λ (nm): 390, 237, 217, 205.

IR (KBr, cm^{-1}): 3420, 3314, 3059, 1617, 1583, 1536, 1319, 1238, 1150, 762, 519.

RMN 1H : (300 MHz, $CDCl_3$), δ_H (ppm): 6.05 (sa, 2H, NH_2), 6.74 (d, 1H, Ar-3, $J= 8.8$ Hz), 7.24 (dd, 1H, Ar-4, $J= 9.0$ y 2.6 Hz), 7.41 (d, 1H, Ar-6, $J= 2.1$ Hz), 7.4 (d, 1H, Ar-3', $J= 1.6$ Hz), 7.52 (dt, 1H, Ar-5', $J= 1.6$ Hz, $J= 1.8$ Hz), 7.55 (d, 1H, Ar-4', $J= 2.8$ Hz), 7.63 (dt, 2H, Ar-2', 6', $J= 1.6$ Hz, $J= 1.8$ Hz).

RMN ^{13}C : (75 MHz, $CDCl_3$), δ_C (ppm): 118.8 (Ar-3), 119.2 (Ar-1'), 120.4 (Ar-5), 128.2 (Ar-3', 5'), 129.1 (Ar-2', 6'), 131.5 (Ar-6), 133.1 (Ar-4'), 134.1 (Ar-4), 139.1 (Ar-1'), 148.5 (Ar-2), 197.8 (C=O).

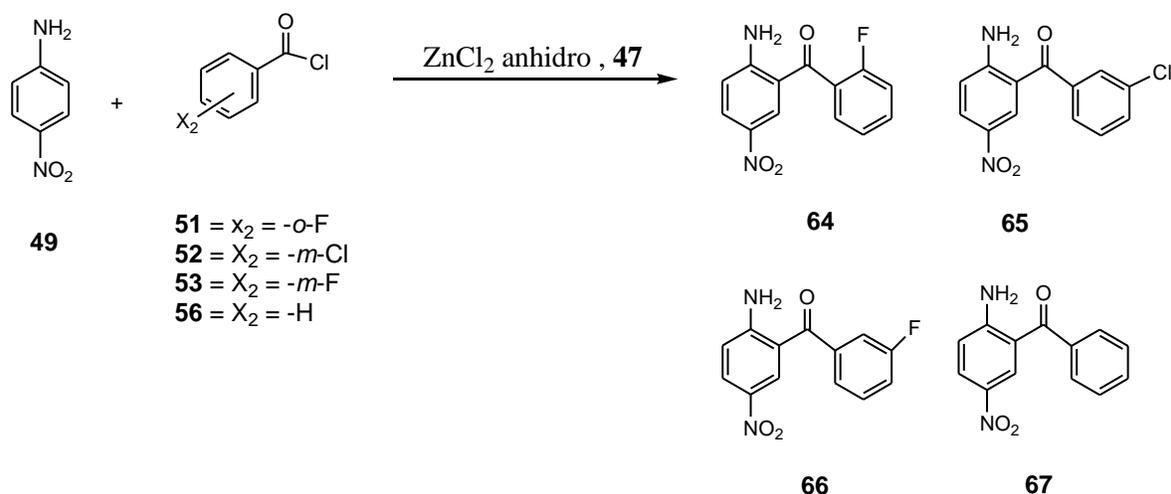
AE: Calculado para $C_{13}H_{10}ClNO$: C, 67.39; H, 4.35; N, 6.05 %.

Encontrado: C, 67.38; H, 4.34; N, 6.04 %.

5.2.1b Síntesis de 2-amino-5-nitrobenzofenonas

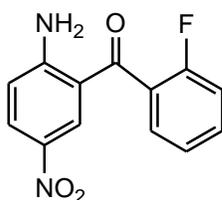
A 5.0×10^{-2} mol de cloruro de benzoilo **50-56**, se le adicionaron 3.2×10^{-2} mol de $ZnCl_2$ anhidro **47**. La mezcla se calentó alrededor de 130-140 °C, al alcanzar la temperatura se agregaron 3.2×10^{-2} mol de *p*-nitroanilina **49** en tres porciones, en un lapso de 30 minutos; terminada la adición se aumentó la temperatura gradualmente hasta alcanzar los 200-205 °C, y se mantuvo durante dos horas. Posteriormente se enfrió a 120° C para lavar el sólido con agua hirviendo, obteniendo un sólido café-verdoso al cual se le adicionaron 11 mL de ácido sulfúrico al 75% (v/v), nuevamente se aumentó la temperatura a 140 °C durante 40 minutos. Transcurrido el tiempo se dejó enfriar y se neutralizó parcialmente con hidróxido de amonio al 20% (v/v), obteniendo un sólido de color verde, al cual se le agrega NaOH al 20% hasta alcanzar la neutralidad. Se colocó en agitación durante 3 h. El producto se filtró y lavó con agua 3-5 veces¹⁷³ Obteniendo un sólido de color café, que se purificó por cromatografía en columna (SiO_2) usando como eluyente mezcla 8:2 de hexano: acetato de etilo, esquema 15.

¹⁷³ L. H. Sternbach, E. Reeder, O. Keller, W. Metlesics, *J. Org. Chem.*, **1961**, 26, 4488.



Esquema 15

COMPUESTO 64



Rendimiento: 30 % (2.49 g).

Aspecto físico: Sólido café claro

Punto de fusión: 86-88°C.

IE: m/z 260, $[M]^+$ UV-vis: MeOH, λ (nm): 321, 267, 228.IR: (KBr, cm^{-1}): 3483, 3370, 1705, 1629, 1595, 1501, 1306, 1110, 842, 754.

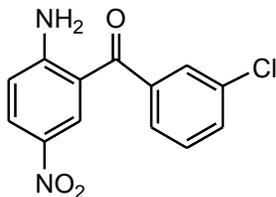
RMN 1H : (300 MHz, $CDCl_3$), δ_H (ppm): 5.85 (sa, 2H, NH_2), 7.23 (d, 1H, Ar-3, $J = 8.2$ Hz), 7.28 (d, 1H, Ar-3'), 7.37 (d, 1H, Ar-5'), 7.56-7.62 (m, 1H, Ar-4'), 7.85 (d, 1H, Ar-6'), 8.17 (dd, 1H, Ar-4, $J = 8.0$ y 2.3 Hz), 8.23- 8.29 (m, 1H, Ar-6), 8.79 (sa, 2H, NH_2).

RMN ^{13}C : (75 MHz, $CDCl_3$), δ_C (ppm): 113.1 (Ar-1), 117.3 (Ar-3'), 118.9 (Ar-3), 124.9 (Ar-5'), 125.4 (Ar-6), 127.4 (Ar-1'), 129.1 (Ar-4), 129.8 (Ar-6'), 133.8 (Ar-4'), 143.8 (Ar-5), 158.7 (Ar-2), 159.5 (Ar-2'), 195.8 (C=O).

AE: Calculado para $C_{13}H_9FN_2O_3$: C, 60.0; H, 3.49; N, 10.77 %.

Encontrado: C, 59.98; H, 3.47; N, 10.76 %.

COMPUESTO 65



Rendimiento: 18 % (1.58 g)

Aspecto físico: Sólido amarillo

Punto de fusión: 128-130 °C.

IE: m/z 276, $[M]^+$ UV-vis: MeOH, λ (nm): 339, 279, 210.IR(KBr, cm^{-1}): 3499, 3342, 1701, 1619, 1593, 1508, 1482, 1337, 1252, 830.

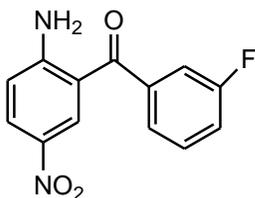
RMN 1H : (300 MHz, $CDCl_3$), δ_H (ppm): 5.38 (sa, 2H, NH_2), 6.77 (d, 1H, Ar-3, $J = 9.0$ Hz), 7.98 (dd, 1H, Ar-5', $J = 1.2$ y 1.3 Hz), 8.01 (dd, 1H, Ar-4', $J = 1.2$ y 1.3 Hz), 8.09 (dd, 1H, Ar-6', $J = 1.2$ Hz, $J = 1.3$ Hz), 8.1 (d, 1H, Ar-2', $J = 1.2$ Hz), 8.18 (d, 1H, Ar-6, $J = 2.7$ Hz), 8.42 (dd, 1H, Ar-4, $J = 8.8$ y 2.7 Hz).

RMN ^{13}C : (75 MHz, $CDCl_3$), δ_C (ppm): 115.4 (Ar-1), 116.9 (Ar-3), 127.0 (Ar-6), 128.3 (Ar-6'), 129.8 (Ar-4), 130.2 (Ar-5'), 131.2 (Ar-2'), 133.8 (Ar-4'), 134.7 (Ar-3'), 140.1 (Ar-1'), 155.2 (Ar-5), 170.7 (Ar-2), 196.3 (C=O).

AE: Calculado para $C_{13}H_9ClN_2O_3$: C, 56.43; H, 3.28; N, 10.13 %.

Encontrado: C, 56.41; H, 3.28; N, 10.11 %.

COMPUESTO 66



Rendimiento: 24 % (1.99 g)

Aspecto físico: Sólido amarillo

Punto de fusión: 108-110°C.

IE: m/z 260, $[M]^+$

UV-vis: EtOH, λ (nm): 322, 267, 228.

IR(KBr, cm^{-1}): 3499, 3341, 1735, 1700, 1616, 1593, 1335, 1301, 1271, 1098, 919.

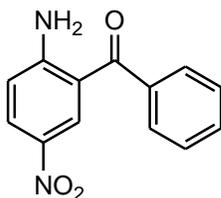
RMN 1H : (300 MHz, $CDCl_3$), δ_H (ppm): 6.77 (d, 1H, Ar-3, $J=9.2$ Hz), 6.90 (sa, 2H, NH_2), 7.34 (d, 1H, Ar-5', $J=1.6$ Hz), 7.38-1.42 (m, 1H, Ar-4'), 7.64 (d, Ar-2', $J=1.4$ Hz), 7.84 (d, Ar-6', $J=9.2$ Hz), 8.27 (d, 1H, Ar-6, $J=2.0$ Hz), 8.45 (d, 1H, Ar-4, $J=3.2$ Hz).

RMN ^{13}C : (75 MHz, $CDCl_3$), δ_C (ppm): 113.5 (Ar-1), 116.8 (Ar-2'), 117.2 (Ar-4'), 118.1 (Ar-3), 125.2 (Ar-6), 126.4 (Ar-6'), 129.3 (Ar-4), 131.2 (Ar-5'), 137.4 (Ar-1'), 144.1 (Ar-5), 159.5 (Ar-2), 163.3 (Ar-3'), 191.3 (C=O).

AE: Calculado para $C_{13}H_9FN_2O_3$: C, 60.00; H, 3.49; N, 10.77 %.

Encontrado: C, 59.99; H, 3.47; N, 10.76 %

COMPUESTO 67



Rendimiento: 20 % (1.54 g).

Aspecto físico: Sólido amarillo

Punto de fusión: 156-158°C.

IE: m/z 242, $[M]^+$

UV-vis: EtOH, λ (nm): 392, 234, 223, 213

IR: (KBr, cm^{-1}): 3452, 3335, 1613, 1478, 1307, 1251, 757, 536.

RMN 1H : (300 MHz, $CDCl_3$), δ_H (ppm): 6.96 (d, 1H, Ar-3 $J=9.2$ Hz), 7.54 (d, 2H, Ar-1',6', $J=8.2$ Hz), 7.60 (s, 2H, NH_2), 7.62 (d, 2H, Ar-3',5', $J=7.6$ Hz), 7.64-7.7 (m, 1H, Ar-4'), 8.12 (d, 1H, Ar-6, $J=2.8$), 8.19 (dd, 1H, Ar-4, $J=8.9$ y 2.8 Hz).

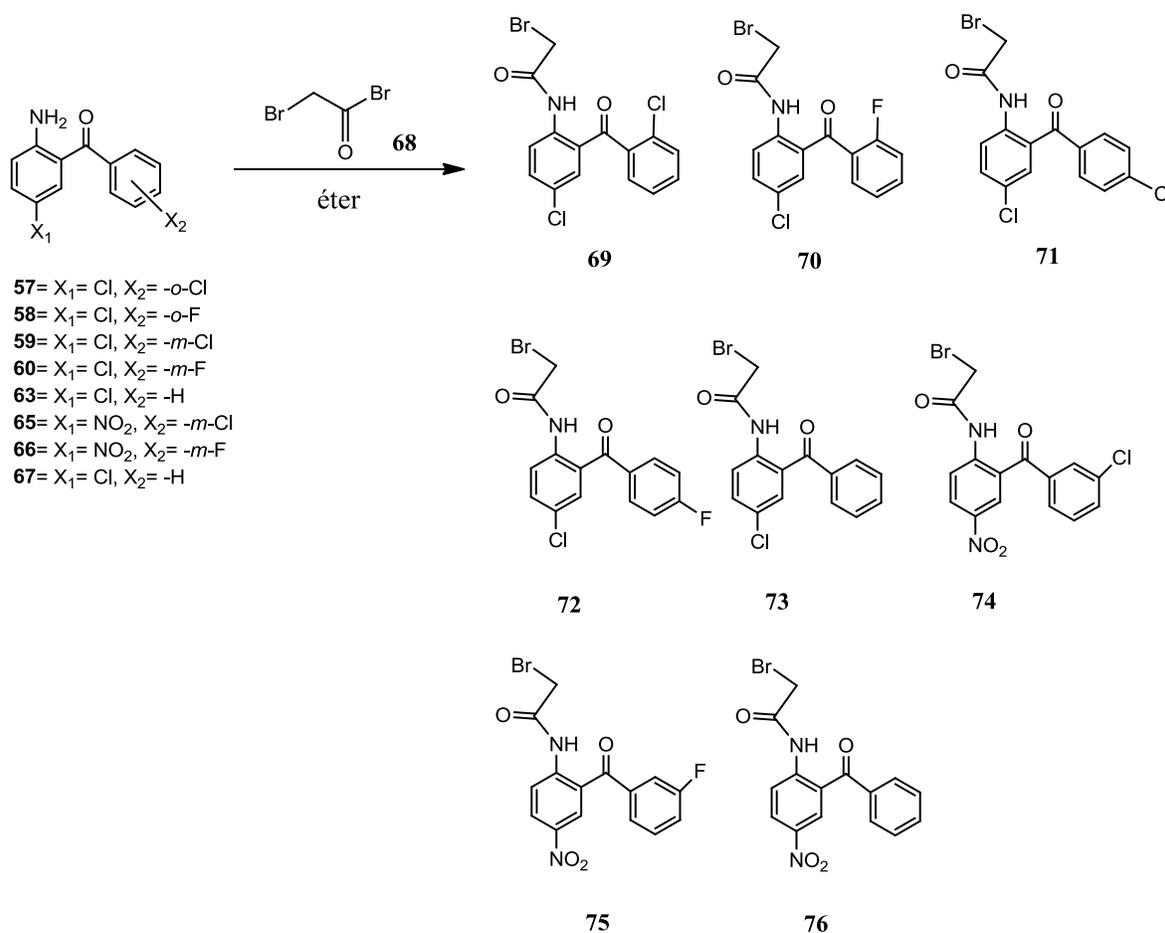
RMN ^{13}C : (75 MHz, $CDCl_3$), δ_C (ppm): 114.6 (Ar-1), 117.0 (Ar-3), 128.5 (Ar-2',6'), 128.7 (Ar-3',5',4), 131.1 (Ar-6), 131.8 (Ar-4'), 134.4 (Ar-1'), 138.5 (Ar-5), 156.1 (Ar-2), 196.6 (C=O).

AE: Calculado para $C_{13}H_{10}N_2O_3$: C, 64.46; H, 4.16; N, 11.56 %.

Encontrado: C, 64.43; H, 4.17; N, 11.55 %

5.2.2 Síntesis de 2-bromoacetamidobenzofenonas

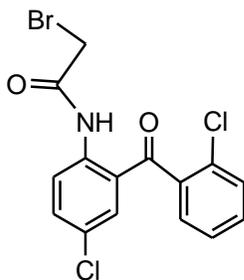
4.13 x 10⁻³ mol de 2-aminobenzofenona **57-67** fueron disueltos en éter anhidro, a una temperatura de 10-12 ° C, posteriormente se agregó lentamente 5.3 x 10⁻³ mol de bromuro de bromoacetilo **68**. Se mantuvo la reacción en agitación por dos horas a esa misma temperatura. De la mezcla de reacción se obtuvieron dos fases que fueron separadas por decantación. El sólido que se obtuvo se lavo 3 veces con una solución de hidróxido de amonio al 15 % (v/v), y 3 veces más con agua, finalmente se seco a vacío¹⁷⁴, esquema 16.



Esquema 16

¹⁷⁴ P. Babin, G. Devaux, *J. Chem. Educ.*, **1989**, 66, 522.

COMPUESTO 69



Rendimiento: 88 % (1.39 g).

Aspecto físico: Cristales amarillos

Punto de fusión: 90-92 °C.

IE: m/z 385, $[M]^+$

UV-vis: EtOH, λ (nm): 240, 224, 207.

IR: (KBr, cm^{-1}): 1682, 1647, 1577, 1509, 1394, 1285, 1236, 758.

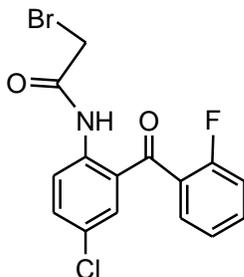
RMN 1H : (200 MHz, $CDCl_3$), δ_H (ppm): 4.07 (s, 2H, CH_2), 7.34 (d, 1H, Ar-, $J = 2.6$ Hz), 7.37 (d, 1H, Ar-4', $J = 1.3$ Hz), 7.40-7.46 (m, 1H, Ar-6'), 7.42-7.50 (m, 1H, Ar-5'), 7.51-7.52 (m, 1H, Ar-6), 7.56 (d, 1H, Ar-4, $J = 2.6$ Hz), 8.75 (d, 1H, Ar-3, $J = 7.2$ Hz), 12.02 (sa, 1H, NH).

RMN ^{13}C : (75 MHz, $CDCl_3$), δ_C (ppm): 29.3 (CH_2), 122.3 (Ar-3), 123.5 (Ar-1), 126.9 (Ar-5'), 128.4 (Ar-5), 128.8 (Ar-3'), 130.3 (Ar-6), 131.0 (Ar-1'), 131.8 (Ar-6'), 133.5 (Ar-4), 135.4 (Ar-4'), 137.7 (Ar-2), 139.1 (Ar-2'), 165.4 (C=O 2), 198.0 (C=O 1).

AE: Calculado para $C_{15}H_{10}BrCl_2NO_2$: C, 46.55; H, 2.60; N, 3.62 %.

Encontrado: C, 46.54; H, 2.61; N, 3.60 %.

COMPUESTO 70



Rendimiento: 90 % (1.37 g).

Aspecto físico: Sólido blanco.

Punto de fusión: 74-76 °C

IE: m/z 369, $[M]^+$

UV-vis: EtOH, λ (nm): 239, 217, 206.

IR: (KBr, cm^{-1}): 1672, 1646, 1578, 1512, 943, 827, 761.

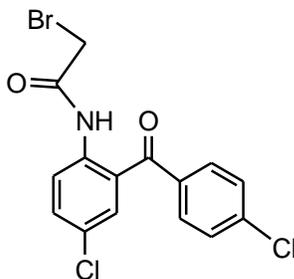
RMN 1H : (200 MHz, $CDCl_3$), δ_H (ppm): 4.05 (s, 2H, CH_2), 7.16 (d, 1H, Ar-3', $J = 1.0$ Hz), 7.21 (t, 1H, Ar-5', $J = 1.2$ Hz), 7.25-7.28 (m, 1H, Ar-4'), 7.34 (d, 1H, Ar-4, $J = 1.0$ Hz), 7.48-7.52 (m, 1H, Ar-6), 7.54-7.65 (m, 1H, Ar-6'), 7.69 (d, 1H, Ar-3, $J = 9.0$ Hz), 11.81 (sa, 1H, NH).

RMN ^{13}C : (75 MHz, $CDCl_3$), δ_C (ppm): 29.38 (CH_2), 116.6 (Ar-3'), 122.4 (Ar-3), 124.6 (Ar-5'), 126.5 (Ar-1), 128.5 (Ar-6'), 129.6 (Ar-5), 130.4 (Ar-6), 133.0 (Ar-4), 133.9 (Ar-1'), 135.0 (Ar-4'), 138.5 (Ar-2), 159.6 (Ar-2'), 165.2 (C=O 2), 195.5 (C=O 1).

AE: Calculado para $C_{15}H_{10}BrClFNO_2$: C, 48.61; H, 2.72; N, 3.78 %.

Encontrado: C, 48.60; H, 2.71; N, 3.77 %.

COMPUESTO 71



Rendimiento: 82 % (1.30 g)

Aspecto físico: Sólido blanco

Punto de fusión: 106-108 °C.

IE: m/z 385, $[M]^+$

UV-vis: EtOH, λ (nm): 396, 233, 208.

IR: (KBr, cm^{-1}): 3296, 3019, 2952, 1685, 1639, 1580, 1504, 1255, 1089, 1012, 773.

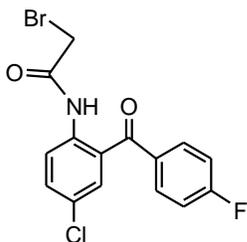
RMN 1H : (200 MHz, $CDCl_3$), δ_H (ppm): 4.01 (s, 2H, CH_2), 7.50 (d, 2H, Ar-3', 5', $J = 8.1$ Hz), 7.55 (d, 1H, Ar-4, $J = 2.4$ Hz), 7.58 (d, 1H, Ar-6, $J = 2.4$ Hz), 7.69 (d, 2H, Ar-2', 6', $J = 8.1$ Hz), 8.56 (d, 1H, Ar-3, $J = 9.0$ Hz), 11.20 (sa, 2H, NH_2).

RMN ^{13}C : (75 MHz, $CDCl_3$), δ_C (ppm): 29.2 (CH_2), 123.2 (Ar-3), 125.2 (Ar-1), 128.5 (Ar-5), 128.9 (Ar-3', 5'), 131.4 (Ar-2', 6'), 132.3 (Ar-6), 134.0 (Ar-4), 135.8 (Ar-1'), 137.9 (Ar-2), 139.8 (Ar-4'), 164.9 (C=O 2), 196.5 (C=O 1).

AE: Calculado para $C_{15}H_{10}BrCl_2NO_2$: C, 46.55; H, 2.60; N, 3.62 %.

Encontrado: C, 46.54; H, 2.59; N, 3.61 %.

COMPUESTO 72



Rendimiento: 80 % (1.21 g)

Aspecto físico: Sólido blanco

Punto de fusión: 72-74 °C.

IE: m/z 369, $[M^+]$

UV-vis: EtOH, λ (nm): 235, 218, 205.

IR:(KBr, cm^{-1}): 2924, 2854, 1745, 1624, 1598, 1538, 1469, 1240, 1154, 748, 527.

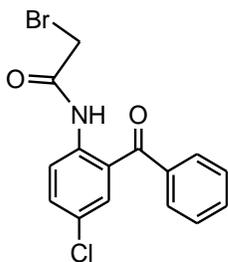
RMN 1H : (200 MHz, $CDCl_3$), δ_H (ppm): 4.1 (s, 2H, CH_2), 7.13-7.19 (m, 2H, Ar-3', 5'), 7.20-7.36 (m, 1H, Ar-6), 7.36 (d, 1H, Ar-4, $J= 2.4$ Hz), 7.76-7.79 (m, 2H, Ar-2', 6'), 8.3 (d, 1H, Ar-3, $J= 9.0$ Hz), 8.6 (sa, 1H, NH).

RMN ^{13}C : (75 MHz, $CDCl_3$), δ_C (ppm): 29.8 (CH_2), 115.3 (Ar-3',5'), 118.4 (Ar-3), 118.7 (Ar-5), 120.0 (Ar-1), 131.6 (Ar-2', 6'), 132.8 (Ar-6), 134.2 (Ar-4) 135.4 (Ar-1'), 149.2 (Ar-2), 164.8 (Ar-4'), 163.5 (C=O, 2), 196.3 (C=O,1).

AE: Calculado para $C_{15}H_{10}BrClFNO_2$: C, 48.61; H, 2.72; N, 3.78 %.

Encontrado: C, 48.60; H, 2.71; N, 3.79 %.

COMPUESTO 73



Rendimiento: 85 % (1.23 g).

Aspecto físico: Sólido blanco

Punto de fusión: 92-93°C.

IE: m/z 351, $[M^+]$

UV-vis: EtOH, λ (nm): 239, 220, 208.

IR(KBr, cm^{-1}): 1684, 1574, 1509, 1389, 1249, 704.

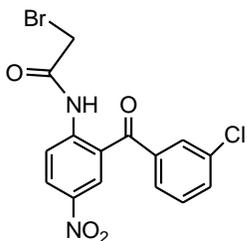
RMN 1H : (200 MHz, $CDCl_3$), δ_H (ppm): 4.02 (s,2H, CH_2), 7.33-7.51 (m, 2H, Ar-5', 3'), 7.55 (d, 2H, Ar-4, 4', $J= 4.1$ Hz), 7.60-7.69 (m,1H, Ar-6), 7.73 (d, 2H, Ar-6', 2', $J= 1.7$ Hz), 8.57 (d,1H, Ar-3, $J= 3.5$ Hz), 11.32 (sa, 1H, NH).

RMN ^{13}C : (75 MHz, $CDCl_3$), δ_C (ppm): 29.2 (CH_2), 123.0 (Ar-3), 125.4 (Ar-1), 128.4 (Ar-2'), 128.6 (Ar-6'), 129.6 (Ar-5), 129.9 (Ar-5', 3'), 132.6 (Ar-4'), 133.1 (Ar-4), 133.8 (Ar-6), 137.5 (Ar-1'), 137.8 (Ar-2),164.9 (C=O 2), 197.8 (C=O 1).

AE: Calculado para $C_{15}H_{11}BrClNO_2$: C, 51.09; H,3.14; N,3.97 %.

Encontrado: C, 51.08 ; H, 3.15; N, 3.97 %

COMPUESTO 74



Rendimiento: 68 % (1.11 g).

Aspecto físico: Sólido beige

Punto de fusión: 110-112°C.

IE: m/z 396, $[M^+]$

UV-vis: EtOH, λ (nm): 338, 279, 208.

IR: (KBr, cm^{-1}): 3253, 1695, 1647, 1613, 1579, 1536, 1508, 1413, 1343, 1250, 847.

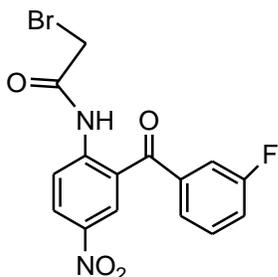
RMN 1H : (200 MHz, $CDCl_3$), δ_H (ppm): 4.07 (s,2H, CH_2), 7.52 (d,1H, Ar-5', $J= 7.2$ Hz), 7.58 (d, 1H, Ar-4', $J=7.6$ Hz), 7.64-7.69 (m, 1H, Ar-2'), 7.73 (dd, 1H, Ar-6', $J= 4.6, 6.6$), 8.44 (t, 1H, Ar-6), 8.51 (dd, 1H, Ar-4, $J= 2.4, 2.6$), 8.89 (dd, 1H, Ar-3, $J= 2.4, 3.2$ Hz), 11.75 (sa, 1H, NH).

RMN ^{13}C : (75 MHz, $CDCl_3$), δ_C (ppm): 29.1 (CH_2), 121.5 (Ar-3), 122.8 (Ar-1), 127.9 (Ar-6), 128.4 (Ar-4), 128.8 (Ar-6'), 129.9 (Ar-5'), 129.7 (Ar-2'), 133.3 (Ar-4'), 135.4 (Ar-1'), 138.6 (Ar-3'), 142.0 (Ar-5), 144.8 (Ar-2), 165.5 (C=O 2), 197.5 (C=O 1).

AE: Calculado para $C_{15}H_{10}BrClN_2O_4$: C,45.31 ; H,2.54 ; N,7.05 %.

Encontrado: C, 45.30; H, 2.53; N, 7.04 %.

COMPUESTO 75



Rendimiento: 76 % (1.19 g)
 Aspecto físico: Sólido blanco
 Punto de fusión: 135-138 °C.
 IE: m/z 380, $[M^+]$

UV-vis: EtOH, λ (nm): 327, 270, 228.

IR: (KBr, cm^{-1}): 3495, 3341, 1735, 1700, 1645, 1616, 1593, 1335, 1301, 1271, 1098, 919, 735.

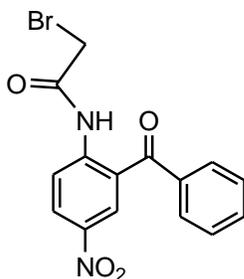
RMN ^1H : (200 MHz, CDCl_3), δ_{H} (ppm): 4.3 (s, 2H, CH_2), 7.18 (d, 1H, Ar-5', $J= 1.6$ Hz), 7.38-1.42 (m, 1H, Ar-4'), 7.64 (d, Ar-2', $J= 1.4$ Hz), 7.84 (d, Ar-6', $J= 9.2$ Hz), 8.27 (d, 1H, Ar-6, $J= 9.0$ Hz), 8.38-8.42 (m, 1H, Ar-4), 8.57 (d, 1H, Ar-3, $J= 9.0$ Hz), 8.97 (sa, 1H, NH).

RMN ^{13}C : (75 MHz, CDCl_3), δ_{C} (ppm): 29.8 (CH_2), 116.8 (Ar-2'), 117.1 (Ar-4'), 117.9 (Ar-1), 118.1 (Ar-3), 125.7 (Ar-6), 126.4 (Ar-6'), 129.2 (Ar-4), 131.2 (Ar-5'), 136.9 (Ar-1'), 144.1 (Ar-5), 159.5 (Ar-2), 163.2 (Ar-3'), 164.2 (C=O, 2), 191.3 (C=O, 1).

AE: Calculado para $\text{C}_{15}\text{H}_{10}\text{BrFN}_2\text{O}_4$: C, 47.27; H, 2.64; N, 7.35 %.

Encontrado: C, 47.26; H, 2.65, N, 7.34 %.

COMPUESTO 76



Rendimiento: 88 % (1.31 g)
 Aspecto físico: Sólido beige
 Punto de fusión: 152-154 °C.
 IE: m/z 362, $[M^+]$

UV-vis: MeOH, λ (nm): 263, 241, 207.

IR: (KBr, cm^{-1}): 1696, 1641, 1579, 1535, 1503, 1443, 1337, 1272, 701.

RMN ^1H : (200 MHz, CDCl_3), δ_{H} (ppm): 4.07 (s, 2H, CH_2), 7.52-7.60 (m, 2H, Ar-3', 5'), 7.65-7.67 (m, 1H, Ar-4'), 7.71-7.77 (m, 2H, Ar-2', 6'), 8.42-8.48 (d, 1H, Ar-4, $J= 2.8$ Hz), 8.51 (d, 1H, Ar-6, $J= 2.6$ Hz), 8.88 (d, 1H, Ar-3, $J= 9.2$ Hz), 11.77 (sa, 1H, NH).

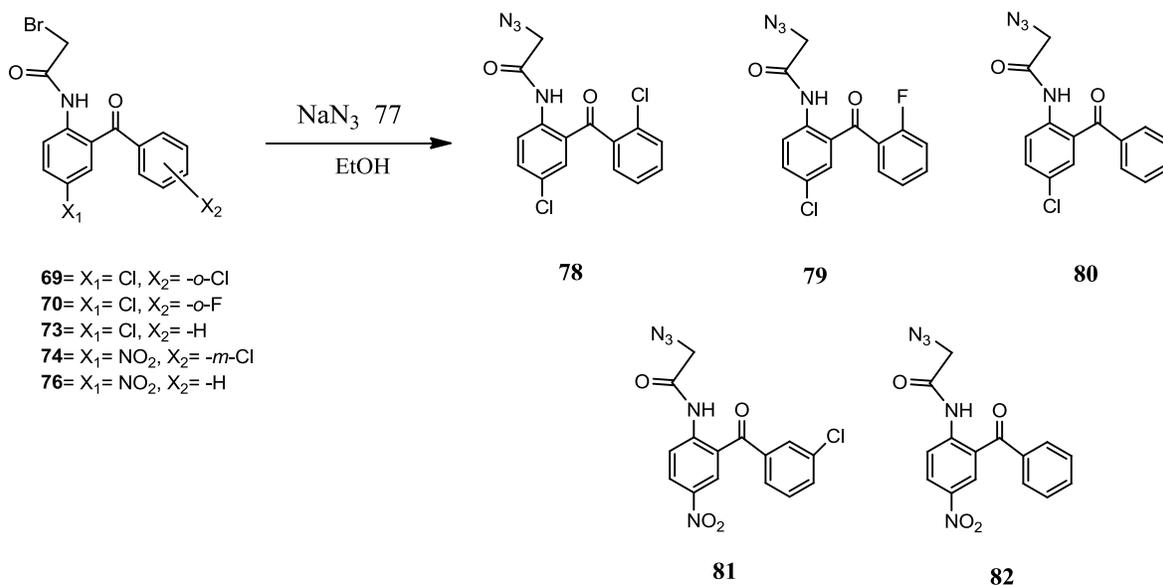
RMN ^{13}C : (75 MHz, CDCl_3), δ_{C} (ppm): 29.1 (CH_2), 121.5 (Ar-3), 123.3 (Ar-1), 128.6 (Ar-6), 128.6 (Ar-1'), 128.8 (Ar-3', 5'), 129.9 (Ar-2', 6'), 133.6 (Ar-4'), 137.0 (Ar-4), 142.0 (Ar-5), 144.8 (Ar-2), 165.5 (C=O 2), 197.5 (C=O 1).

AE: Calculado para $\text{C}_{15}\text{H}_{11}\text{BrN}_2\text{O}_4$: C, 49.61; H, 3.05; N, 7.71 %.

Encontrado: C, 49.60; H, 3.04; N, 7.70 %.

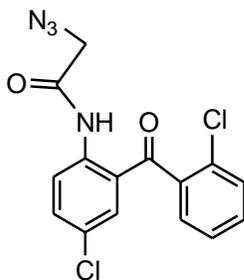
5.2.3 Síntesis de 2-azidoacetamidobenzofenonas

Se disolvieron 2.5×10^{-3} mol de 2-bromoacetamido-benzofenona **69-76** en 15 mL de etanol anhidro, posteriormente se adicionaron 3.15×10^{-3} mol de azida de sodio **77**. Se calentó a reflujo por 40 minutos. Se agregó 10 mL de acetona anhidra para disolver el producto formado. La mezcla de reacción se filtró en caliente para eliminar el exceso de azida de sodio. La solución se concentró a mitad de su volumen, y posteriormente fue enfriada para obtener un precipitado que corresponde al derivado de 2-azidoacetamido-benzofenona, esquema 17.



Esquema 17

COMPUESTO 78



Rendimiento: 79 % (0.69 g)
 Aspecto físico: Sólido blanco
 Punto de fusión: 72-75 °C.
 IE: m/z 348, [M⁺]

UV-vis: EtOH, λ (nm): 266, 238, 223, 211.

IR: (KBr, cm^{-1}): 2116, 1692, 1643, 1575, 1512, 1273, 1238, 735.

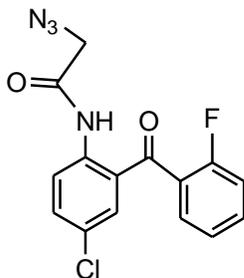
RMN ¹H: (200 MHz, CDCl_3), δ_{H} (ppm): 4.19 (s, 2H, CH_2), 7.34(d, 1H, Ar-, 3', $J= 2.6$ Hz), 7.37 (d, 1H, Ar-4' , $J= 1.3$ Hz), 7.40-7.46 (m, 1H, Ar-6'), 7.49-7.50 (m, 1H, Ar-5'), 7.51-7.52 (m, 1H, Ar-6), 7.56 (d, 1H, Ar-4, $J= 2.6$ Hz), 8.79 (d, 1H, Ar-3, $J= 9.0$ Hz), 11.98 (sa, 1H, NH).

RMN ¹³C: (75 MHz, CDCl_3), δ_{C} (ppm): 53.5 (CH_2), 122.3 (Ar-3), 123.5 (Ar-1), 126.9 (Ar-5'), 128.3 (Ar-5), 128.8 (Ar-3'), 130.3 (Ar-6), 131.0 (Ar-1'), 131.8 (Ar-6'), 133.5 (Ar-4), 135.4 (Ar-4'), 137.7 (Ar-2), 138.8 (Ar-2'), 166.3 (C=O 2), 198.0 (C=O 1).

AE: Calculado para $\text{C}_{15}\text{H}_{10}\text{Cl}_2\text{N}_4\text{O}_2$: C, 51.60; H, 2.89; N, 16.05 %.

Encontrado: C, 51.61; H, 2.90; N, 16.03 %.

COMPUESTO 79



Rendimiento: 81 % (0.67 g)
 Aspecto físico: Sólido blanco
 Punto de fusión: 66-68°C.
 IE: m/z 332, [M⁺]

UV-vis: EtOH, λ (nm): 239, 217, 204

IR: (KBr, cm^{-1}): 2108, 1693, 1606, 1511, 1287, 759

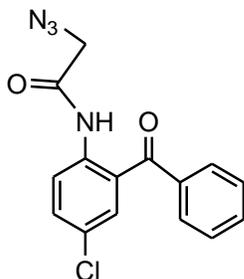
RMN ¹H: (200 MHz, CDCl_3), δ_{H} (ppm): 4.17 (s, 2H, CH_2), 7.16 (d, 1H, Ar- 3', $J= 1.0$ Hz), 7.21 (t, 1H, Ar-5', $J= 1.2$ Hz), 7.25-7.27 (m, 1H, Ar-4'), 7.31 (d, 1H, Ar-4, $J= 1.0$ Hz), 7.47-7.51 (m, 1H, Ar-6), 7.56-7.60 (m, 1H, Ar-6'), 8.72 (d, 1H, Ar-3, $J= 9.0$ Hz), 11.74 (sa, 1H, NH).

RMN ¹³C: (75 MHz, CDCl_3), δ_{C} (ppm): 30.3 (CH_2), 116.9, (Ar-3'), 122.8 (Ar-3), 125.3(Ar-5'), 126.9 (Ar-1), 129.2 (Ar-6'), 129.6 (Ar-5), 131.0 (Ar-6), 133.2 (Ar-4), 134.1 (Ar-1'), 135.4 (Ar-4'), 138.9 (Ar-2), 157.8 (Ar-2'), 165.8 (C=O 2), 195.3 (C=O 1).

AE: Calculado para $\text{C}_{15}\text{H}_{10}\text{ClFN}_4\text{O}_2$: C, 54.15; H, 3.03; N, 16.84 %.

Encontrado: C, 54.16; H, 3.02; N, 16.82 %.

COMPUESTO 80



Rendimiento: 80 % (0.63 g).
 Aspecto físico: Sólido amarillo
 Punto de fusión: 80-82 °C.
 IE: m/z 314, [M⁺]

UV-vis: EtOH, λ (nm): 238, 219, 209.

IR: (KBr, cm^{-1}): 2108, 1698, 1572, 1513, 1286, 1249, 699.

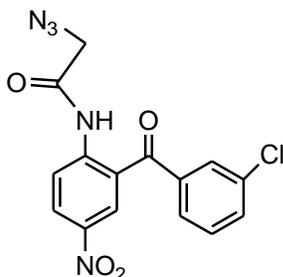
RMN ¹H: (200 MHz, CDCl_3), δ_{H} (ppm): 4.14 (s, 2H, CH_2), 7.49 (t, 1H, Ar-4'), 7.51-7.53 (m, 1H, Ar-6), 7.55-7.58 (m, 1H, Ar-4), 7.61-7.66 (m, 2H, Ar-5', 3'), 7.70-7.75 (m, 2H, Ar-6', 2'), 8.62 (d, 1H, Ar-3, $J= 4.8$ Hz), 11.24 (sa, 1H, NH).

RMN ¹³C: (75 MHz, CDCl_3), δ_{C} (ppm): 53.4 (CH_2), 123.0 (Ar-3), 125.3 (Ar-5), 128.3 (Ar-1), 128.5 (Ar-3', 5'), 129.9 (Ar-6', 2'), 132.7 (Ar-6), 133.1 (Ar-4'), 133.8 (Ar-4), 137.6 (Ar-2), 165.8 (C=O 2), 198.0 (C=O 1).

AE: Calculado para $\text{C}_{15}\text{H}_{11}\text{ClN}_4\text{O}_2$: C, 57.24; H, 3.52; N, 17.80 %.

Encontrado: C, 57.22; H, 3.52; N, 17.79 %.

COMPUESTO 81



Rendimiento: 95 % (0.86g).
 Aspecto físico: Sólido café
 Punto de fusión: 130-132°C.
 IE: m/z 359, $[M]^+$

UV-vis: MeOH, λ (nm): 341, 278, 211.

IR: (KBr, cm^{-1}): 3299, 2119, 1709, 1651, 1582, 1537, 1512, 1345, 1260, 850.

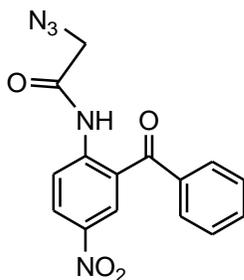
RMN 1H : (200 MHz, $CDCl_3$), δ_H (ppm): 4.28 (s, 2H CH_2), 7.54 (d, 1H, Ar-5', $J=7.2$ Hz), 7.58 (d, 1H, Ar-4', $J=7.6$ Hz), 7.64-7.69 (m, 1H, Ar-2'), 7.73 (dd, 1H, Ar-6', $J=4.6, 6.6$ Hz), 8.44 (t, 1H, Ar-6), 8.51 (dd, 1H, Ar-4, $J=2.4, 2.6$ Hz), 8.91 (dd, 1H, Ar-3, $J=2.4, 3.2$ Hz), 11.77 (sa, 1H, NH).

RMN ^{13}C : (75 MHz, $CDCl_3$), δ_C (ppm): 53.6 (CH_2), 123.5 (Ar-1), 124.3 (Ar-3), 127.9 (Ar-6), 128.4 (Ar-4), 128.8 (Ar-6'), 129.9 (Ar-5'), 129.9 (Ar-2'), 133.3 (Ar-4'), 135.4 (Ar-1'), 138.9 (Ar-3'), 142.2 (Ar-5), 144.9 (Ar-2), 165.5 (C=O, 2), 196.8 (C=O, 1).

AE: Calculado para $C_{15}H_{10}ClN_5O_4$: C, 50.08; H, 2.80; N, 19.47 %.

Encontrado: C, 50.09; H, 2.81; N, 19.46 %.

COMPUESTO 82



Rendimiento: 90 % (0.74 g)
 Aspecto físico: Sólido blanco
 Punto de fusión: 139-140°C.
 IE: m/z 325, $[M]^+$

UV-vis: MeOH, λ (nm): 264, 218, 213, 207.

IR: (KBr, cm^{-1}): 3283, 2119, 1708, 1649, 1615, 1581, 1538, 1511, 1347, 1263, 876.

RMN 1H : (200 MHz, $CDCl_3$), δ_H (ppm): 4.22(s, 2H, CH_2), 7.52-7.60 (m, 2H, Ar-3', 5'), 7.66-7.67 (m, 1H, Ar-4'), 7.71-7.77 (m, 2H, Ar-2', 6'), 8.42-8.48 (d, 1H, Ar-4, $J=2.8$ Hz), 8.51 (d, 1H, Ar-6, $J=2.4$ Hz), 8.92 (d, 1H, Ar-3, $J=9.2$ Hz), 11.7 (sa, 1H, NH).

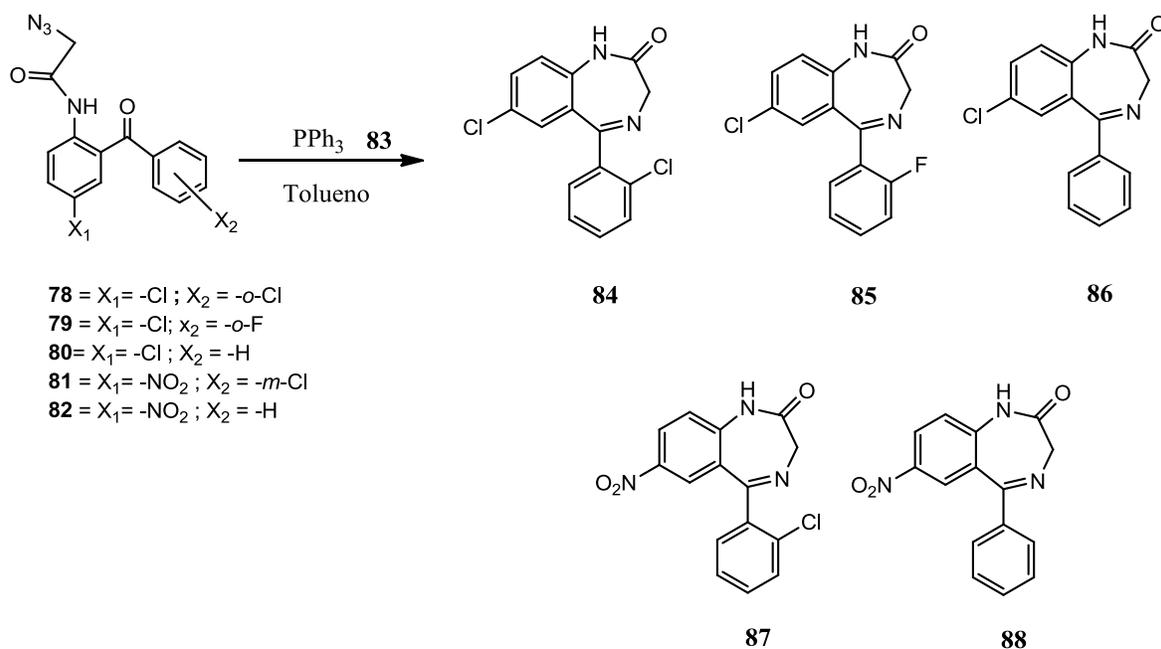
RMN ^{13}C : (75 MHz, $CDCl_3$), δ_C (ppm): 53.4 (CH_2), 121.6 (Ar-3), 123.3 (Ar-1), 128.6 (Ar-4), 128.8 (Ar-3', 5'), 129.9 (Ar-6', 2'), 133.6 (Ar-6), 137.1 (Ar-4'), 141.9 (Ar-1'), 144.5 (Ar-5), 147.9 (Ar-2), 166.4 (C=O, 2), 197.6 (C=O, 1).

AE: Calculado para $C_{15}H_{11}N_5O_4$: C, 55.39; H, 3.41; N, 21.53 %.

Encontrado: C, 55.38; H, 3.40; N, 21.52 %.

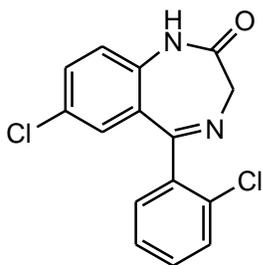
5.2.4 Síntesis de 1,4-benzodiazepin-2-onas

Se disolvieron 1.7×10^{-3} mol de 2-azidoacetamido-benzofenona **78-82**, y 2.1×10^{-3} mol de trifenilfosfina **83** en tolueno anhidro, a la mezcla de reacción se le mantuvo en agitación y temperatura ambiente hasta la disolución completa. Posteriormente la mezcla se colocó a reflujo por una hora. Se eliminó el disolvente a presión reducida. El producto puro se obtuvo por cromatografía en columna (SiO_2) usando como eluyente mezcla 6:4 de hexano:acetato de etilo. Con esta metodología se logró la obtención de los compuestos **84-88**, esquema 18.



Esquema 18

COMPUESTO 84



Rendimiento: 62 % (0.32g).
 Aspecto físico: Sólido blanco.
 Punto de fusión: 198-200°C.
 IE: m/z 304, $[M]^+$

UV-vis: MeOH, λ (nm): 224, 216, 207.

IR: (KBr, cm^{-1}): 1677, 1479, 1438, 1390, 1322, 1188, 1119, 752, 723, 539.

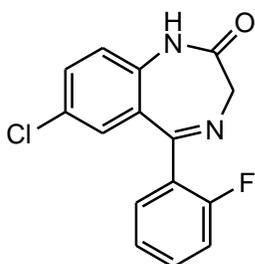
RMN 1H : (300 MHz, $CDCl_3$), δ_H (ppm): 4.39 (s, 2H, CH_2), 7.04 (d, 1H, Ar-6, $J=2.4$ Hz), 7.14 (d, 1H, Ar-9, $J=8.7$ Hz), 7.36-7.39 (m, 1H, Ar-3'), 7.40-7.42 (m, 1H, Ar-4'), 7.43-7.45 (m, 1H, Ar-5'), 7.50-7.52 (m, 1H, Ar-8), 7.53-7.54 (m, 1H, Ar-6'), 9.70 (sa, 1H, NH).

RMN ^{13}C : (75 MHz, $CDCl_3$), δ_C (ppm): 56.4 (CH_2), 122.6 (Ar-9), 127.0 (Ar-5'), 129.1 (Ar-5a), 129.2 (Ar-7), 129.3 (Ar-6), 130.2 (Ar-3'), 131.0 (Ar-4', Ar-6'), 131.9 (Ar-8), 133.2 (Ar-2'), 136.6 (Ar-1'), 138.3 (Ar-9a), 169.4 (C=N), 171.3 (C=O).

AE: Calculado para $C_{15}H_{10}Cl_2N_2O$: C, 59.04; H, 3.30; N, 9.18 %.

Encontrado: C, 59.03; H, 3.31; N, 9.18 %.

COMPUESTO 85



Rendimiento: 75 % (0.37 g).
 Aspecto físico: Sólido blanco.
 Punto de fusión: 79-81°C.
 IE: m/z 288, $[M]^+$

UV-vis: MeOH, λ (nm): 319, 229.

IR: (KBr, cm^{-1}): 1686, 1612, 1481, 1361, 1326, 1218, 1014, 821, 748, 537.

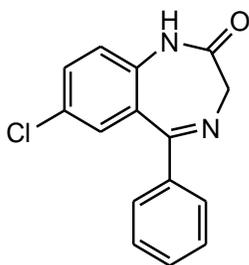
RMN 1H : (300 MHz, $CDCl_3$), δ_H (ppm): 4.30 (s, 2H, CH_2), 7.14 (d, 1H, Ar-3', $J=0.9$ Hz), 7.18 (d, 1H, Ar-9, $J=1.2$ Hz), 7.31 (d, 1H, Ar-5'), 7.34 (s, 1H, Ar-6), 7.53-7.57 (m, 1H, Ar-4'), 7.57-7.62 (m, 1H, Ar-8), 7.62-7.66 (m, 1H, Ar-6'), 9.64 (sa, 1H, NH).

RMN ^{13}C : (75 MHz, $CDCl_3$), δ_C (ppm): 57.8 (CH_2), 116.8 (Ar-3'), 123.8 (Ar-9), 125.3 (Ar-5'), 128.5 (Ar-1'), 128.7 (Ar-7), 129.3 (Ar-5a), 129.4 (Ar-6), 129.6 (Ar-8), 130.4 (Ar-6'), 132.4 (Ar-4'), 138.5 (Ar-9a), 162.9 (Ar-2') 166.4 (C=N), 170.5 (C=O).

AE: Calculado para $C_{15}H_{10}ClFN_2O$: C, 62.40; H, 3.49; N, 9.70 %.

Encontrado: C, 62.41; H, 3.50; N, 9.68 %.

COMPUESTO 86



Rendimiento: 61 % (0.28 g)
 Aspecto físico: Sólido amarillo
 Punto de fusión: 218-219°C.
 IE: m/z 270, $[M]^+$

UV-vis: EtOH, λ (nm): 228, 212, 207.

IR: (KBr, cm^{-1}): 1682, 1604, 1478, 1357, 1232, 1011, 817, 699, 536.

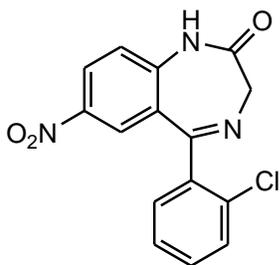
RMN 1H : (300 MHz, $CDCl_3$), δ_H (ppm): 4.27 (s, 2H, CH_2), 7.29 (d, 1H, Ar-9, $J=2.4$ Hz), 7.37 (s, 1H, Ar-6), 7.43-7.48 (m, 2H, Ar-6', 2'), 7.49-7.51 (m, 1H, Ar-4'), 7.52-7.58 (m, 2H, Ar-5', 3'), 7.61 (d, 1H, Ar-8, $J=2.7$ Hz), 9.57 (sa, 1H, NH).

RMN ^{13}C : (75 MHz, $CDCl_3$), δ_C (ppm): 57.7 (CH_2), 123.8 (Ar-9), 128.2 (Ar-7), 129.0 (Ar-5', 3'), 129.3 (Ar-5a), 130.2 (Ar-6', 2'), 130.9 (Ar-4'), 132.3 (Ar-8), 139.7 (Ar-9a), 140.0 (Ar-1'), 169.6 (C=N), 171 (C=O).

AE: Calculado para $C_{15}H_{11}ClN_2O$: C, 66.55; H, 4.10; N, 10.35 %.

Encontrado: C, 66.53; H, 4.11; N, 10.33 %.

COMPUESTO 87



Rendimiento: 65 % (0.35 g)
 Aspecto físico: Sólido amarillo
 Punto de fusión: 208-210 °C.
 IE: m/z 315, $[M]^+$

UV-vis: EtOH, λ (nm): 254,242,206

IR: (KBr, cm^{-1}): 3348, 1694, 1614, 1581, 1532, 1343, 1189, 1111, 887.

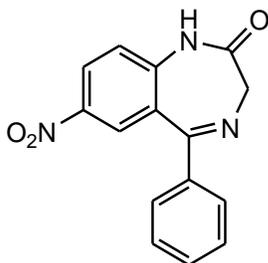
RMN 1H : (200 MHz, $CDCl_3$), δ_H (ppm): 3.76, 4.91 (d, CH_2 , $J=10.8$ Hz), 7.38-7.40 (m, 3H, Ar- 3',4',5'), 7.43 (d, 1H, Ar-9, $J= 8.4$ Hz), 7.61 (s, 1H, Ar-6'), 8.19 (d, 1H, Ar- 6, $J= 2.7$ Hz), 8.41 (dd, 1H, Ar-8, $J= 9.3$ Hz, $J= 3.0$ Hz), 10.1 (sa, 1H, NH).

RMN ^{13}C : (75 MHz, $CDCl_3$), δ_C (ppm): 57.2 (CH_2), 122.2 (Ar-9), 126.2 (Ar-6), 127.4 (Ar-5a), 127.1 (Ar-8), 128.2 (Ar-5'), 128.9 (Ar-3'), 130.6 (Ar-6', 4'), 132.3 (Ar-2'), 138.4 (Ar-1'), 142.3 (Ar- 7), 144.2 (Ar-9a), 169.1 (C=N), 171.3 (C=O).

AE: Calculado para $C_{15}H_{10}ClN_3O_3$: C, 57.06; H, 3.19; N, 13.31 %.

Encontrado: C, 57.05; H, 3.20; N, 13.30 % .

COMPUESTO 88



Rendimiento: 85 % (0.41 g)
 Aspecto físico: Sólido amarillo
 Punto de fusión: 220-222°C.
 IE: m/z 281, $[M]^+$

UV-vis: EtOH, λ (nm): 260, 244, 207.

IR: (KBr, cm^{-1}): 3350, 1692, 1612, 1533, 1483, 1337, 1187, 1118, 721, 696, 540.

RMN 1H : (200 MHz, $CDCl_3$), δ_H (ppm): 4.37 (s, CH_2), 7.42-7.46 (m, 2H, Ar- 3', 5'), 7.47-7.50 (m, 1H, Ar-4'), 7.51-7.54 (m, 2H, Ar-2', 6'), 7.64 (d, 1H, Ar- 9, $J= 1.5$ Hz), 8.21 (d, 1H, Ar-6, $J= 2.57$ Hz), 8.32 (d, 1H, Ar-8, $J= 2.7$ Hz), 10.15 (sa, 1H, NH).

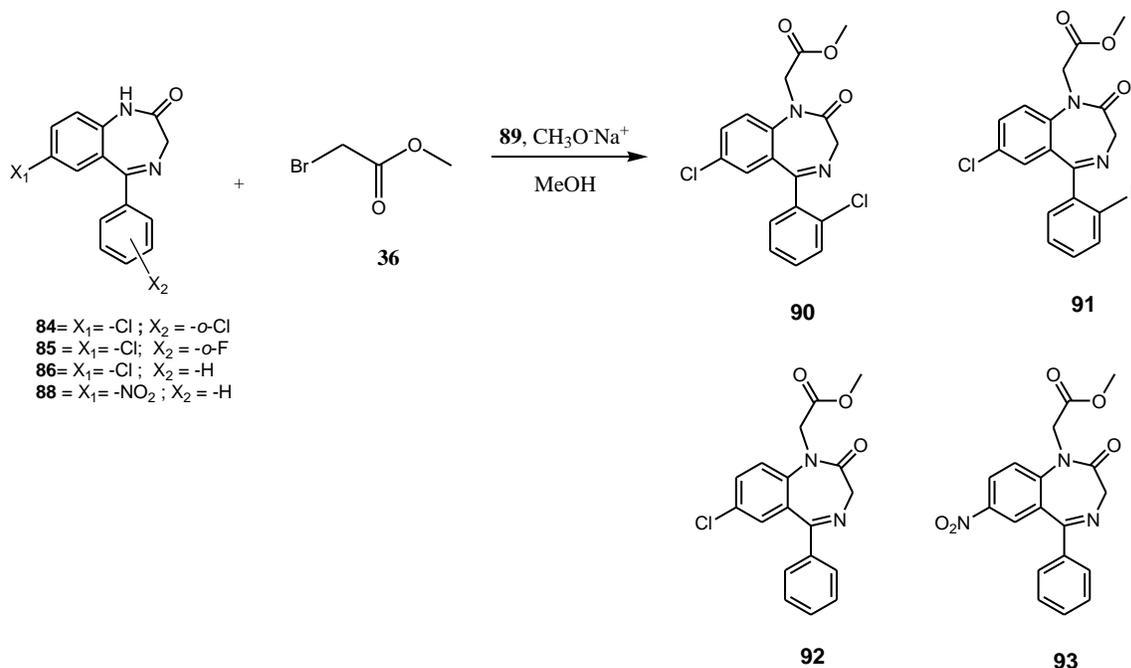
RMN ^{13}C : (75 MHz, $CDCl_3$), δ_C (ppm): 56.5 (CH_2), 122.1 (Ar-9), 126.5 (Ar- 6), 127.4 (Ar-5a), 128.4 (Ar-3',5'), 128.5 (Ar-6',2'), 128.6 (Ar-4'), 129.6 (Ar- 8), 138.0 (Ar-1'), 142.6 (Ar- 7), 144.0 (Ar-9a), 169.8 (C=N), 170.8 (C=O).

AE: Calculado para $C_{15}H_{11}N_3O_3$: C, 64.05; H, 3.94; N, 14.94 %.

Encontrado: C, 64.06; H, 3.93; N, 14.93 %.

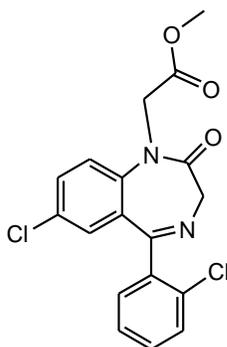
5.2.5 Síntesis de metilacetato[1,4-benzodiazepin-2-onas]

Se disolvieron 7.9×10^{-4} mol de 1,4-benzodiazepin-2-ona **84-88** en metanol anhidro, la mezcla de reacción se mantuvo en agitación y temperatura ambiente hasta la disolución completa. Posteriormente se adicionaron 9.87×10^{-4} mol de metóxido de sodio **89** recién preparado, manteniendo la reacción bajo las mismas condiciones durante 30 minutos. Transcurrido el tiempo se disminuyó la temperatura a 10-12 °C para adicionar gota a gota 9.87×10^{-4} mol de metil bromoacetato **36**, finalmente se mantuvo la reacción a temperatura ambiente por 4 horas. El producto puro se obtuvo por cromatografía en columna (SiO_2) usando como eluyente mezcla 6:4 de hexano: acetato de etilo. Con esta metodología se logró la obtención de los compuestos **90-93**, esquema 19.



Esquema 19

COMPUESTO 90



Rendimiento: 64 % (0.19 g).

Aspecto físico: Sólido blanco

Punto de fusión: 113-114°C.

IE: m/z 376, $[M]^+$

UV-vis: MeOH, λ (nm): 222, 215, 208.

IR: (KBr, cm^{-1}): 1748, 1677, 1479, 1438, 1390, 1322, 1188, 1119, 752, 723.

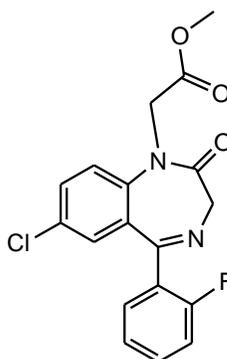
RMN ^1H : (300 MHz, CDCl_3), δ_{H} (ppm): 3.72 (s, 3H, $-\text{OCH}_3$), 3.78, 4.77 (d, 2H, CH_2 , $J=11.5$ Hz), 4.6 (s, 2H, CH_2), 7.12 (d, 1H, Ar-9, $J=8.7$ Hz), 7.37 (d, 1H, Ar-6, $J=2.4$ Hz), 7.42-7.45 (m, 1H, Ar-3'), 7.47-7.49 (m, 1H, Ar-4'), 7.52-7.53 (m, 1H, Ar-5'), 7.55-7.58 (m, 1H, Ar-8), 7.63-7.65 (m, 1H, Ar-6').

RMN ^{13}C : (75 MHz, CDCl_3), δ_{C} (ppm): 50.1 (CH_2), 52.5 ($-\text{OCH}_3$), 56.8 (CH_2), 122.8 (Ar-9), 127.0 (Ar-5'), 129.0 (Ar-5a), 129.2 (Ar-7), 129.3 (Ar-6), 130.2 (Ar-3'), 131.0 (Ar-4', Ar-6'), 131.9 (Ar-8), 133.2 (Ar-2'), 136.6 (Ar-1'), 138.3 (Ar-9a), 169.4 (C=N), 171.3 (C=O, 1), 173.2 (C=O, 2).

AE: Calculado para $\text{C}_{18}\text{H}_{14}\text{Cl}_2\text{N}_2\text{O}_3$: C, 57.31; H, 3.74; N, 7.43 %.

Encontrado: C, 57.30; H, 3.73; N, 7.44 %.

COMPUESTO 91



Rendimiento: 70 % (0.19 g)

Aspecto físico: Sólido café claro

Punto de fusión: 114-115°C.

IE: m/z 360, $[M]^+$

UV-vis: MeOH, λ (nm): 323, 229, 209.

IR: (KBr, cm^{-1}): 1751, 1689, 1614, 1483, 1359, 1326, 1218, 1014, 821, 745.

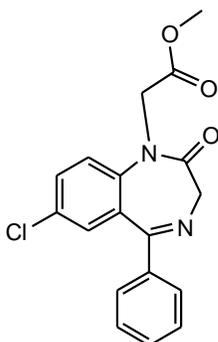
RMN ^1H : (300 MHz, CDCl_3), δ_{H} (ppm): 3.76 (s, 3H, $-\text{OCH}_3$), 3.89, 4.92 (d, 2H, CH_2 , $J=11.8$ Hz), 4.53 (s, 2H, CH_2), 7.05 (d, 1H, Ar-3', $J=0.9$ Hz), 7.18 (d, 1H, Ar-9, $J=2.4$ Hz), 7.25 (d, 1H, Ar-5', $J=4.6$ Hz), 7.43 (s, 1H, Ar-6), 7.45-7.48 (m, 1H, Ar-4'), 7.67 (d, 1H, Ar-8, $J=1.8$ Hz), 7.70 (d, 1H, Ar-6', $J=1.8$ Hz).

RMN ^{13}C : (75 MHz, CDCl_3), δ_{C} (ppm): 49.7 (CH_2), 52.6 ($\text{O}-\text{CH}_3$), 56.5 (CH_2), 116.4 (Ar-3'), 122.8 (Ar-9), 124.5 (Ar-5'), 126.6 (Ar-1'), 126.7 (Ar-5a), 130.4 (Ar-6), 131.3 (Ar-6'), 131.4 (Ar-7), 131.6 (Ar-8), 132.4 (Ar-4'), 140.2 (Ar-9a), 162.15 (Ar-2'), 166.0 (C=N), 168.7 (C=O, 1), 169.1 (C=O, 2).

AE: Calculado para $\text{C}_{18}\text{H}_{14}\text{ClFN}_2\text{O}_3$: C, 59.93; H, 3.91; N, 7.76 %.

Encontrado: C, 59.91; H, 3.92; N, 7.75 %.

COMPUESTO 92



Rendimiento: 58 % (0.16 g)

Aspecto físico: Sólido blanco

Punto de fusión: 134-135°C.

IE: m/z 342, $[M]^+$

UV-vis: MeOH, λ (nm): 309, 227.

IR: (KBr, cm^{-1}): 1750, 1686, 1610, 1483, 1406, 1325, 1212, 822, 752, 698.

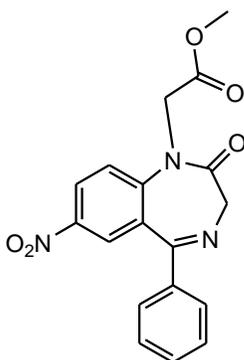
RMN 1H : (300 MHz, $CDCl_3$), δ_H (ppm): 3.71 (s, 3H, -OCH₃), 3.87, 4.86 (dd, 2H, CH₂, $J = 10.8$ Hz), 4.55 (s, 2H, CH₂), 7.29 (d, 1H, Ar-9, $J = 2.4$ Hz), 7.43 (s, 1H, Ar-6), 7.44-7.46 (m, 2H, Ar-6', 2'), 7.48-7.50 (m, 1H, Ar-4'), 7.51-7.53 (m, 2H, Ar-5', 3'), 7.64 (d, 1H, Ar-8, $J = 7.9$ Hz).

RMN ^{13}C : (75 MHz, $CDCl_3$), δ_C (ppm): 49.3 (CH₂), 52.6 (O-CH₃), 56.0 (CH₂), 123.0 (Ar-9), 128.5 (Ar-5', 3'), 129.1 (Ar-7), 129.7 (Ar-6', 2'), 130.1 (Ar-6), 130.5 (Ar-5a), 131.0 (Ar-4'), 131.9 (Ar-8), 137.7 (Ar-1'), 141.3 (Ar-9a), 168.9 (C=N), 169.0 (C=O, 1), 169.7 (C=O, 2).

AE: Calculado para C₁₈H₁₅ClN₂O₃: C, 63.07; H, 4.41; N, 8.17 %.

Encontrado: C, 63.06; H, 4.40; N, 8.15 %.

COMPUESTO 93



Rendimiento: 60 % (0.17 g)

Aspecto físico: Sólido café claro

Punto de fusión: 120-121°C.

IE: m/z 353, $[M]^+$

UV-vis: MeOH, λ (nm): 263, 244, 207.

IR: (KBr, cm^{-1}): 1749, 1698, 1615, 1531, 1487, 1336, 1187, 1118, 721, 696, 540.

RMN 1H : (300 MHz, $CDCl_3$), δ_H (ppm): 3.75 (s, 3H, -OCH₃), 4.22, 6.57 (d, 2H, CH₂, $J = 9.4$ Hz), 5.28 (s, 2H, CH₂), 7.14 (d, 1H, Ar-9, $J = 2.2$ Hz), 7.48-7.50 (m, 2H, Ar-3', 5'), 7.51-7.53 (m, 1H, Ar-4'), 7.53-7.56 (m, 2H, Ar-2', 6'), 8.10 (s, 1H, Ar-6), 8.14 (d, 1H, Ar-8, $J = 2.6$ Hz).

RMN ^{13}C : (75 MHz, $CDCl_3$), δ_C (ppm): 49.8 (CH₂), 52.4 (-OCH₃), 56.5 (CH₂), 122.1 (Ar-9), 126.5 (Ar-6), 127.4 (Ar-5a), 128.4 (Ar-3', 5'), 128.5 (Ar-6', 2'), 128.6 (Ar-4'), 129.6 (Ar-8), 138.0 (Ar-1'), 142.6 (Ar-7), 144.0 (Ar-9a), 169.8 (C=N), 170.8 (C=O, 1), 171.2 (C=O, 2).

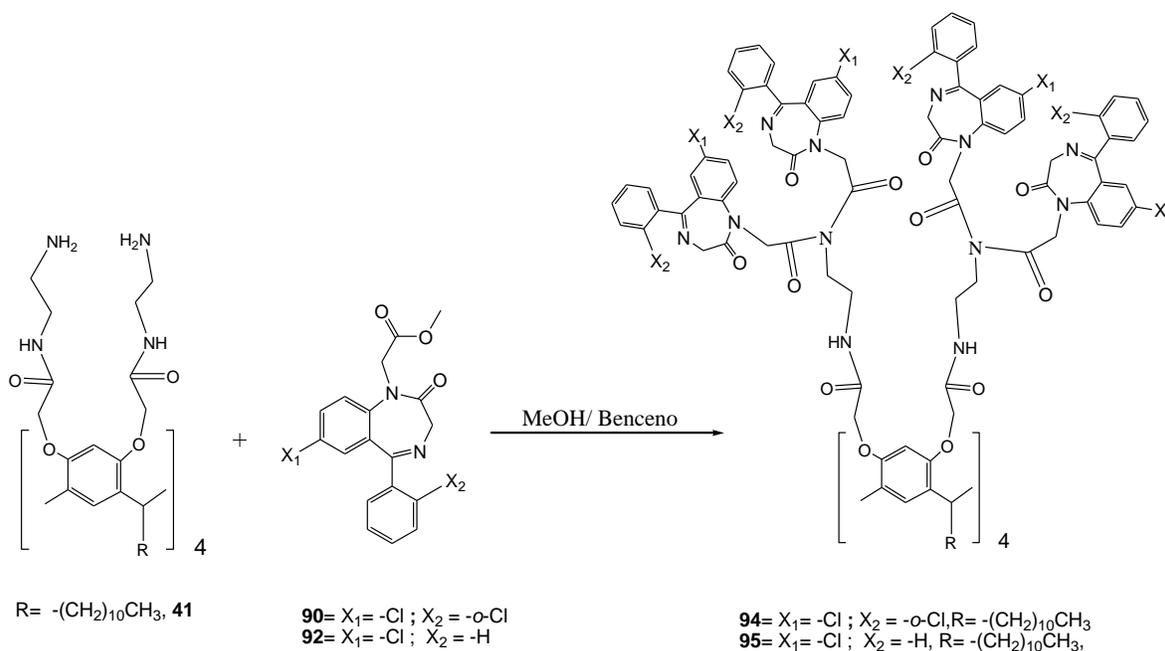
AE: Calculado para C₁₈H₁₅N₃O₅: C, 61.19; H, 4.28; N, 11.89 %.

Encontrado: C, 61.17; H, 4.27; N, 11.87 %.

5.3 CONJUGADOS DE RESORCINAREN-DENDRÍMEROS CON 1,4-BENZODIAZEPINAS

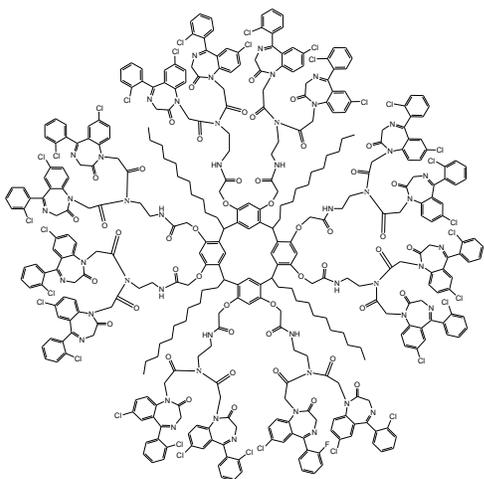
5.3.1 Conjugados de resorcinaren-dendrimeros G 1.0 con metilacetato [1,4-benzodiazepin-2-onas]

Se disolvieron 9.2×10^{-6} mol de resorcinaren-dendrímtero G 1.0 **41** en una mezcla metanol/benceno (4:1), se mantuvo en agitación a temperatura ambiente hasta su disolución completa, posteriormente se adicionaron 1.8×10^{-4} mol de metilacetato 1,4,benzodiazepin-2-ona **90** o **92** manteniendo la mezcla de reacción a reflujo por 5 días. Terminada la reacción se eliminó el exceso de disolvente, y el residuo se lavó con metanol tres veces, finalmente el sólido fue secado a alto vacío por 24 hrs. Obteniendo los compuestos **94** y **95**, esquema 20.



Esquema 20

COMPUESTO 94



Rendimiento: 84 %

Aspecto físico: Sólido blanco

Punto de fusión: > 300°C.

MS-MALDI: m/z 7411.55, $[M^+]$

UV-vis: MeOH, λ (nm): 286, 218, 208.

IR: (KBr, cm^{-1}): 2926, 2865, 1749, 1675, 1542, 1480, 1390, 1108, 1055, 756.

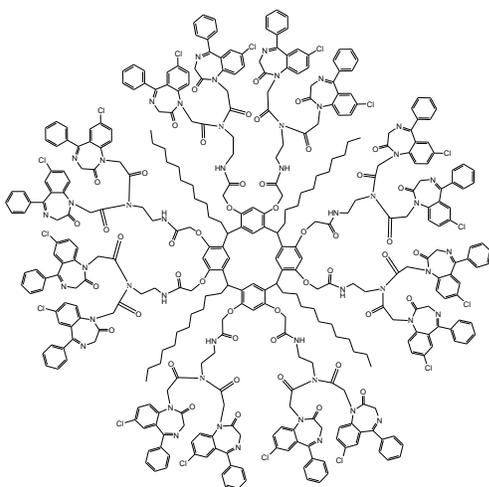
RMN ^1H : (300 MHz, CDCl_3), δ_{H} (ppm): 0.88 (t, 12H, CH_3 , $J = 6.2$ Hz), 1.25 (sa, 72H, CH_2), 1.95 (an, 8H, CH_2), 3.02 (sa, 16H, $\text{CH}_2\text{-NH}$), 3.54 (s, 16H, $\text{CH}_2\text{-N}$), 3.86, 4.80 (d, 32H, CH_2 Bz, $J = 11.5$ Hz), 4.35 (s, 16H, $\text{CH}_2\text{-O}$), 4.63 (s, 32H, CH_2 Bz), 6.25 (s, 4H, Ar), 6.84 (s, 4H, Ar), 7.14 (d, 16H, Ar-9 Bz, $J = 8.7$ Hz), 7.37 (d, 16H, Ar-6 Bz, $J = 2.4$ Hz), 7.45-7.49 (m, 16H, Ar-3' Bz), 7.52-7.56 (m, 16H, Ar-4' Bz), 7.57-7.59 (m, 16H, Ar-5' Bz), 7.63-7.66 (m, 16H, Ar-8 Bz), 7.70-7.72 (m, 16H, Ar-6' Bz).

RMN ^{13}C : (75 MHz, CDCl_3), δ_{C} (ppm): 14.1 (CH_3), 22.7 (CH_2), 29.4 (CH_2), 29.7 (CH_2), 29.8 (CH_2), 31.9 (CH_2), 34.5 (CH), 36.1 ($\text{CH}_2\text{-NH}$), 40.9 ($\text{CH}_2\text{-N}$), 52.3 (CH_2 Bz), 57.1 (CH_2 Bz), 67.4 ($\text{CH}_2\text{-O}$), 98.2 (Ar), 122.8 (Ar-9), 125.5 (Ar), 126.6 (Ar-5a), 127.0 (Ar-5'), 127.8 (Ar_{ipso}), 129.2 (Ar-7), 129.4 (Ar-6), 130.1 (Ar-3'), 131.0 (Ar-4', Ar-6'), 131.4 (Ar-8), 133.2 (Ar-2'), 137.4 (Ar-1'), 138.3 (Ar-9a), 156.4 (Ar-O), 167.2 (C=N, C=O Bz), 168.3 (C=O, 2), 169.3 (C=O, 1).

AE: Calculado para $\text{C}_{376}\text{H}_{336}\text{Cl}_{32}\text{N}_{48}\text{O}_{48}$: C, 60.79; H, 4.56; N, 9.05 %.

Encontrado: C, 60.78; H, 4.55; N, 9.05 %.

COMPUESTO 95



Rendimiento: 85 %

Aspecto físico: Sólido blanco

RMN ^1H : (300 MHz, CDCl_3), δ_{H} (ppm): 0.82 (s, 12H, CH_3), 1.03 (s, 40H, CH_2), 1.25 (s, 40H, CH_2), 3.21 (sa, 16H, $\text{CH}_2\text{-NH}$), 3.38 (sa, 16H, $\text{CH}_2\text{-N}$), 3.70 (s, 16H, $\text{CH}_2\text{-O}$), 3.9, 4.8 (d, 32H, CH_2 , Bz, $J = 10.8$ Hz), 4.6 (d, 32H, CH_2 Bz, $J = 4.8$ Hz), 7.09 (an, 4H, Ar), 7.14 (sa, 4H, Ar), 7.26 (d, 16H, Ar-9 Bz, $J = 2.4$ Hz), 7.32-7.35 (m, Ar-2', 6' Bz), 7.41-7.45 (m, 16H, Ar-3', 5' Bz), 7.49-7.51 (m, 16H, Ar-4' Bz), 7.53-7.56 (m, 16H, Ar-6 Bz), 7.58-7.60 (m, 16H, Ar-8 Bz).

RMN ^{13}C : (75 MHz, CDCl_3), δ_{C} (ppm): 14.1 (CH_3), 22.8 (CH_2), 29.5 (CH_2), 29.8 (CH_2), 29.9 (CH_2), 30.2 (CH_2), 32.1 (CH_2), 34.7 (CH), 37.2 ($\text{CH}_2\text{-NH}$), 40.1 ($\text{CH}_2\text{-N}$), 52.9 (CH_2 Bz), 56.6 (CH_2 Bz), 67.5 ($\text{CH}_2\text{-O}$), 123.8 (Ar, Ar-9 Bz), 126.3 (Ar-*ipso*, Ar-5a Bz), 128.4 (Ar-6 Bz), 128.6 (Ar-3', 5' Bz), 128.7 (Ar-2', 6' Bz), 128.9 (Ar-7 Bz), 130.6 (Ar-8 Bz), 131.3 (Ar-4' Bz), 138.4 (Ar-1'), 141.6 (Ar-O), 142.5 (Ar-9a Bz), 169.6 (C=N, C=O Bz), 169.8 (C=O Bz), 169.9 (C=O, 1).

Punto de fusión: > 300°C.

MS-MALDI: m/z 6903.17, $[M+Na]^+$.

UV-vis: MeOH, λ (nm):281, 206.

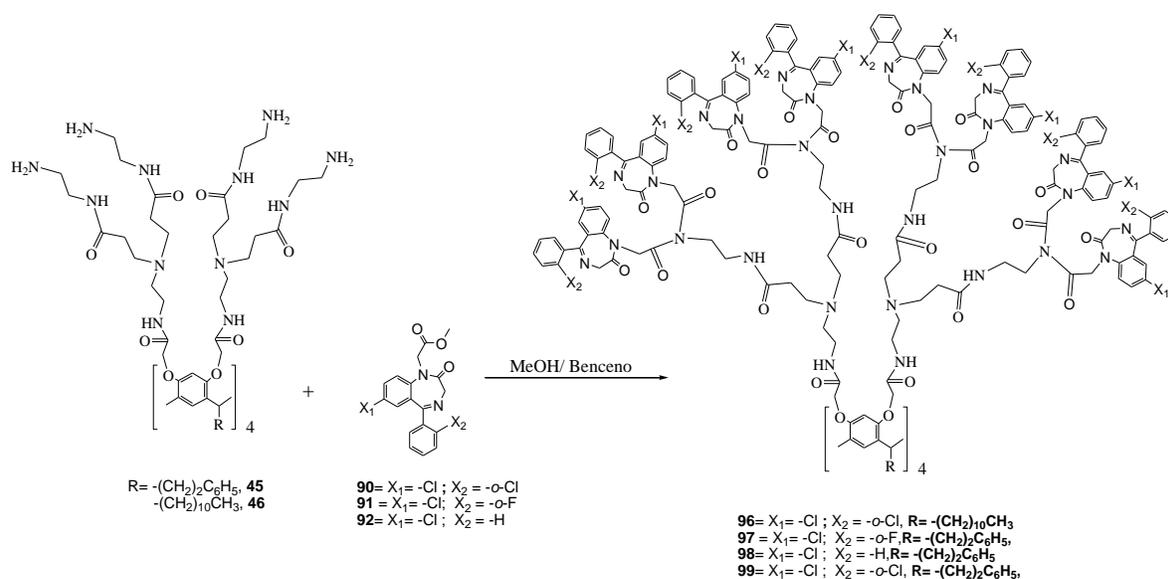
IR:(KBr, cm^{-1}):2927, 2864, 1749, 1672, 1545,
1499, 1286, 1106, 1055, 759

AE: Calculado para $C_{376}H_{352}Cl_{16}N_{48}O_{48}$: C, 65.66; H,
5.16; N.9.77 %.

Encontrado: C, 65.68; H, 5.17; N,9.76 %.

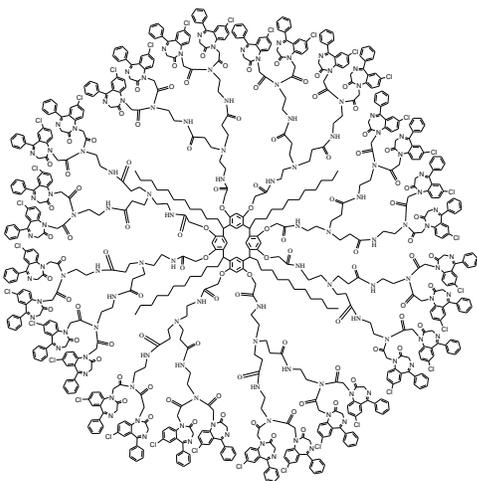
5.3.2 Conjugados de resorcinaren-dendrimeros G2.0 con metilacetato [1,4 benzodiazepin-2-onas]

Se siguió la metodología empleada para la obtención de los conjugados con dendrímeros de primera generación, haciendo los cálculos pertinentes para la formación de conjugados con dendrímeros de segunda generación, unidos a 32 moléculas de benzodiazepinas, esquema 21. En este caso se usaron los resorcinaren-dendrimeros G 2.0 **45** y **46**, con las derivados 1,4 benzodiazepinicos **90-92**, se obtuvieron cuatro conjugados, **96-99**.



Esquema 21

COMPUESTO 96



Rendimiento: 87 %

Aspecto físico: Sólido café claro

Punto de fusión: >300°C.

MS-ESI: m/z 13673.24, $[M]^+$

UV-vis: MeOH, λ (nm): 285, 227, 206.

IR: (KBr, cm^{-1}): 3100, 3070, 2864, 1705, 1673, 1686, 1545, 1483, 1408, 1286, 1106, 1055, 822, 759.

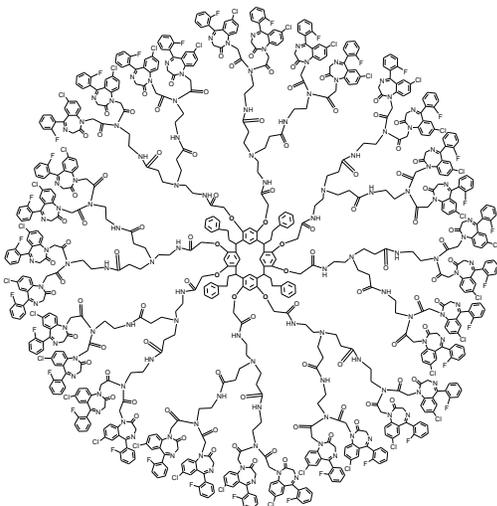
RMN ^1H : (300 MHz, CDCl_3), δ_{H} (ppm): 0.77 (s, 12H, CH_3), 1.12 (s, 40H, CH_2), 1.15 (s, 40H, CH_2), 2.25 (sa, 16H, $\text{CH}_2\text{-N}$), 2.77 (sa, 32H, $\text{CH}_2\text{-C=O}$), 2.92 (sa, 32H, N-CH_2), 3.29 (sa, 48H, $\text{CH}_2\text{-NH}$), 3.27 (sa, 32H, $\text{CH}_2\text{-N}$), 3.77, 4.72 (d, 64 H, CH_2 Bz, $J=10.8$ Hz), 4.49 (sa, 16H, $\text{CH}_2\text{-O}$), 4.44 (d, 64H, CH_2 , Bz $J=3.3$ Hz), 7.29-7.41 (m, 16H, Ar- 2', 6', Bz), 7.18 (d, 32H, Ar- 9, Bz, $J=3.3$ Hz), 7.48 (d, 32H, Ar-6 Bz, $J=1.8$ Hz), 7.51 (s, 32H, Ar-8 Bz).

RMN ^{13}C : (75 MHz, CDCl_3), δ_{C} (ppm): 14.3 (CH_3), 22.8 (CH_2), 29.5 (CH_2), 29.8 (CH_2), 29.9 (CH_2), 30.2 (CH_2), 32.1 (CH_2), 34.0 (CH), 49.0 ($\text{CH}_2\text{-C=O}$), 49.3($\text{CH}_2\text{-NH}$), 49.5 (CH), 49.8 ($\text{CH}_2\text{-NH}$), 50.2 ($\text{CH}_2\text{-N}$), 50.5 ($\text{CH}_2\text{-N}$), 52.7 (N- CH_2 , $\text{CH}_2\text{-Bz}$), 56.4 ($\text{CH}_2\text{-Bz}$), 56.7 ($\text{CH}_2\text{-O}$), 96.4 (Ar), 122.6 (Ar_{ipso}), 123.0 (Ar, Ar-9 Bz), 128.6 (Ar-3',5' Bz), 129.6 (Ar-6 Bz) 130.2 (Ar-2',6' Bz), 130.4 (Ar-7 Bz), 131.0 (Ar-8 Bz), 131.9 (Ar-4' Bz), 138.1 (Ar-1' Bz), 142.8 (Ar-9a Bz), 169.2 (C=N, C=O Bz), 169.4 (C=O, 3, 2), 169.9 (C=O,1).

AE: Calculado para $\text{C}_{728}\text{H}_{688}\text{Cl}_{32}\text{N}_{112}\text{O}_{96}$: C, 63.93; H, 5.07; N, 11.47 %.

Encontrado: C, 63.93; H, 5.06; N, 11.46 %.

COMPUESTO 97



Rendimiento: 92 %

Aspecto físico: Sólido café claro

UV-vis: MeOH, λ (nm): 322, 261, 229, 206.

IR:(KBr, cm^{-1}): 3026, 2849, 1751, 1663, 1537, 1499, 1444, 1302, 1280, 1195, 1102, 1052, 764, 705.

RMN ^1H : (300 MHz, CDCl_3), δ_{H} (ppm): 2.30 (sa, 8H, CH_2), 2.72 (sa, 8H, CH_2), 2.8 (sa, 16H, $\text{CH}_2\text{-N}$), 3.02 (s, 32H, $\text{CH}_2\text{-NH}$), 3.18 (s, 32H, $\text{CH}_2\text{-N}$), 3.20 (sa, 32H, $\text{CH}_2\text{-N}$), 3.32 (s, 32H, $\text{CH}_2\text{-N}$), 3.92, 4.82 (d, 64H, CH_2 Bz, $J=10.8$ Hz), 4.56 (sa, 16H, $\text{CH}_2\text{-O}$), 4.62 (s, 64H, $\text{CH}_2\text{-Bz}$), 6.43 (s, 4H, Ar), 7.11 (s, 4H, Ar), 7.12-7.13 (m, 32H, Ar-3' Bz), 7.15 (d, 32H, Ar-9 Bz, $J=2.4$ Hz), 7.17 (d, 8H, Ar-2,6), 7.28-7.32 (m, 4H, Ar-4), 7.34 (m, 1H, Ar-5' Bz), 7.46(s, 4H, Ar), 7.51-7.55 (m, 32H, Ar-4' Bz), 7.60 (d, 32H, Ar-6 Bz, $J=1.8$ Hz), 7.62-7.64 (m, 32H, Ar-6' Bz).

RMN ^{13}C : (75 MHz, CDCl_3), δ_{C} (ppm): 29.4 (CH_2), 31.6 (CH_2), 40.6 ($\text{CH}_2\text{-NH}$), 41.8 ($\text{CH}_2\text{-NH}$), 45.4 ($\text{CH}_2\text{-N}$), 51.7 (CH_2 , Bz),

Punto de fusión: >300°C.

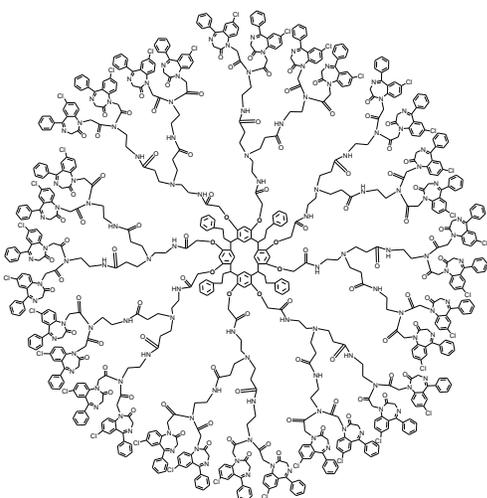
MS-ESI: m/z 14048. 506, $[M^+]$

52.4 (CH₂-N), 56.0 (CH₂-Bz), 56.3 (CH₂-C=O), 67.2 (CH₂-O), 116.2 (Ar-3' Bz), 123.1 (Ar-9 Bz), 123.7 (Ar_{ipso}), 124.5 (Ar), 126.0 (Ar-1' Bz), 126.2 (Ar-5a, Bz), 128.3 (Ar), 128.5 (Ar), 130.4 (Ar), 130.6 (Ar-6' Bz), 130.9 (Ar-8 Bz), 132.6(Ar-4'), 139.9 (Ar_{ipso}), 140.6 (Ar-9a Bz), 157.9 (Ar-O), 158.6, 169.5 (Ar-2' Bz), 166.9 (C=N, Bz),166.9 (C=O, Bz), 169.0 (C=O, Bz), 169.2 (C=O, 1, 2).

AE: Calculado para C₇₁₆H₆₀₀Cl₃₂F₃₂N₁₁₂O₉₆: C,61.20; H,4.30; N,11.16 %.

Encontrado: C, 61.19; H, 4.31; N, 11.17 %.

COMPUESTO 98



Rendimiento: 89 %

Aspecto físico: Sólido café claro

Punto de fusión: > 300°C.

MS-MALDI: m/z 13,472.80, $[M^+]$

UV-vis: MeOH, λ (nm): 227, 218, 207.

IR: (KBr,cm⁻¹):3397, 2953, 2928, 2854, 1750, 1685, 1609, 1483, 1406, 1324, 1211, 821, 752, 698.

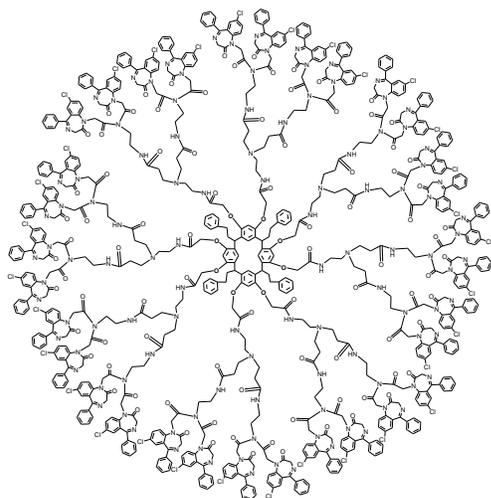
RMN ¹H: (300 MHz, CDCl₃), δ_H (ppm):2.38 (sa, 8H, CH₂), 2.61 (sa,8H, CH₂), 2.8 (sa, 16H, CH₂-N), 3.05 (s, 32H, CH₂-NH), 3.12 (s, 32H, CH₂-NH), 3.20 (sa, 32H, CH₂-C=O), 3.41 (sa, 32H, CH₂-NH), 3.9, 4.77 (d, 64H, CH₂, J = 10.8 Hz), 4.54 (sa, 16H, CH₂-O), 4.60 (d, 64H, CH₂-Bz, J = 4.8 Hz), 4.80 (t, 4H, CH, J = 7.0 Hz), 6.43 (s, 4H, Ar), 6.50 (s, 4H, Ar), 7.10-7.20 (m, 20H, Ar), 7.27 (d, 1H, Ar-9 Bz, J = 2.4 Hz), 7.33 (s, 2H, Ar-6',2' Bz), 7.36 (s,1H, Ar-5', 3' Bz), 7.45-7.50 (m, 2H, Ar-4' Bz), 7.54 (d, 1H, Ar-6 Bz, J = 2.4 Hz), 7.60 (d, 1H, Ar-8 Bz, J = 6.9 Hz).

RMN ¹³C: (75 MHz, CDCl₃), δ_C (ppm): 29.8 (CH₂), 29.9 (CH₂), 34.5 (CH), 37.8 (CH₂-NH), 40.1(CH₂-N), 52.8 (CH₂-Bz, CH₂-N), 56.4 (CH₂- C=O, CH₂-Bz), 67.2 (CH₂-O), 101.2 (Ar), 123.2 (Ar-9 Bz), 123.5 (Ar), 126.1 (Ar-5a, Bz), 128.5 (Ar), 128. 8, (Ar), 129.8 (Ar-5', 3' Bz), 130.4 (Ar-6', 2', 4' Bz), 130.8 (Ar-7 Bz), 131.2 (Ar_{ipso}), 131.3 (Ar-6 Bz), 132.4 (Ar-8 Bz), 138.3 (Ar-1' Bz), 141.4 (Ar_{ipso}), 142.3 (Ar-9a, Bz), 157.9 (Ar-O), 169.5 (C=O Bz, C=N),169.7 (C=O, 2 Bz), 170.1 (C=O, 1).

AE: Calculado para C₇₁₆H₆₃₂Cl₃₂N₁₁₂O₉₆: C, 63.82; H, 4.73; N,11.64.%

Encontrado: C, 63.81; H, 4.74; N, 11.65.%

COMPUESTO 99



Rendimiento: 87 %

Aspecto físico: Sólido blanco

Punto de fusión: > 300°C.

MS-MALDI: m/z 14561.70, $[M+Na^+]$.

UV-vis: MeOH, λ (nm): 281, 261, 220, 208.

IR: (KBr, cm^{-1}): 3026, 2934, 2849, 1748, 1677, 1628, 1535, 1476, 1390, 1188, 1119, 1056, 752, 723.

RMN 1H : (300 MHz, $CDCl_3$, δ_H (ppm)): 2.38 (sa, 8H, CH_2), 2.61 (sa, 8H, CH_2), 2.25 (sa, 16H, CH_2-N), 2.77 (sa, 32H, $CH_2-C=O$), 2.92 (sa, 32H, $N-CH_2$), 3.29 (sa, 48H, CH_2-NH), 3.27 (sa, 32H, CH_2-N), 3.77 (d, 32H, CH_2 Bz, $J=10.8$ Hz), 4.49 (sa, 16H, CH_2-O), 4.44 (d, 32H, CH_2 Bz, $J=3.3$ Hz), 4.72 (d, 64 H, CH_2 Bz, $J=10.8$ Hz), 6.43 (s, 4H, Ar), 6.50 (s, 4H, Ar), 7.10-7.20 (m, 20H, Ar), 7.29-7.41 (m, 16H, Ar-2', 6', Bz), 7.18 (d, 32H, Ar-9 Bz, $J=3.3$ Hz), 7.48 (d, 32H, Ar-6 Bz, $J=1.8$ Hz), 7.51 (s, 32H, Ar-8, Bz).

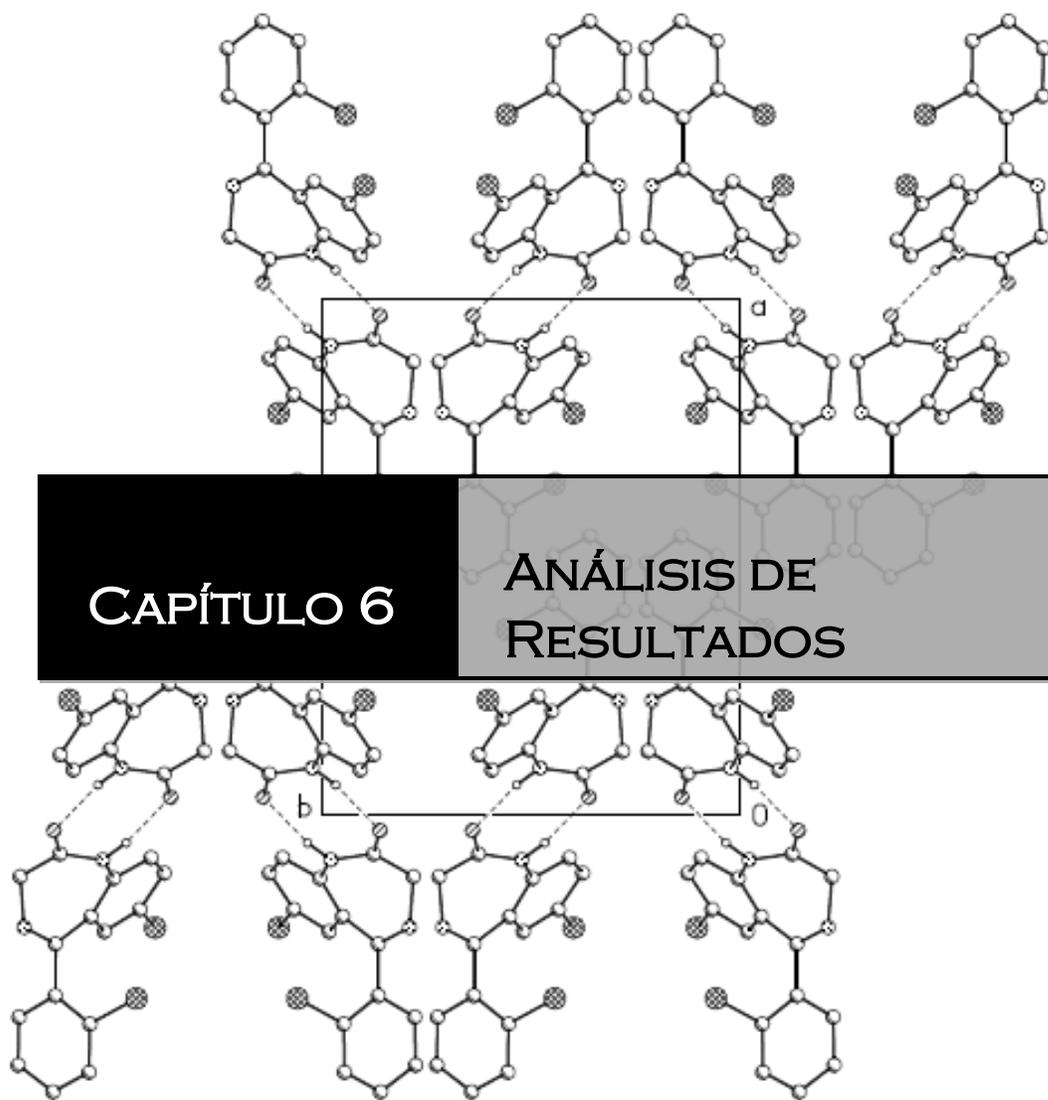
RMN ^{13}C : (75 MHz, $CDCl_3$, δ_C (ppm)): 14.3 (CH_3), 22.8 (CH_2), 29.5 (CH_2), 29.8 (CH_2), 29.9 (CH_2), 30.2 (CH_2), 32.1 (CH_2), 34.0 (CH), 49.0 ($CH_2-C=O$), 49.3 (CH_2-NH), 49.5 (CH), 49.8 (CH_2-NH), 50.2 (CH_2-N), 50.5 (CH_2-N), 52.7 ($N-CH_2$, CH_2-Bz), 56.4 (CH_2-Bz), 56.7 (CH_2-O), 96.4 (Ar), 122.6 (Ar_{ipso}), 123.0 (Ar, Ar-9 Bz), 128.6 (Ar-3', 5' Bz), 129.6 (Ar-6 Bz), 130.2 (Ar-2', 6' Bz), 130.4 (Ar-7 Bz), 131.0 (Ar-8 Bz), 131.9 (Ar-4' Bz), 138.1 (Ar-1' Bz), 142.8 (Ar-9a Bz), 169.2 (C=N, C=O Bz), 169.4 (C=O, 3, 2), 169.9 (C=O, 1).

AE: Calculado para $C_{716}H_{600}Cl_{64}N_{112}NaO_{96}$: C, 58.90; H, 4.14; N, 10.74 %.

Encontrado: C, 58.93; H, 4.18; N, 10.76 %.

CAPÍTULO 6

**ANÁLISIS DE
RESULTADOS**



El diseño y síntesis de nuevos materiales con diversas aplicaciones en las diferentes áreas de la ciencia, se ve influenciado por las características físico-químicas de determinados grupos funcionales en la estructura química del compuesto sintetizado. En particular, para la obtención de dendrímeros con elevados pesos moleculares y una estructura globular perfectamente bien definida, es necesario considerar los grupos funcionales presentes en las ramificaciones los cuales les atribuyen ciertas propiedades físico-químicas, así como el uso de un centro o núcleo multifuncional que permita la síntesis de los dendrímeros sin que se presenten impedimentos estéricos. Para lograr este objetivo en el presente trabajo se empleó como núcleo del dendrímero a los resorcinarenos, macromoléculas cíclicas que permiten obtener dendrímeros libres de impedimentos estéricos.

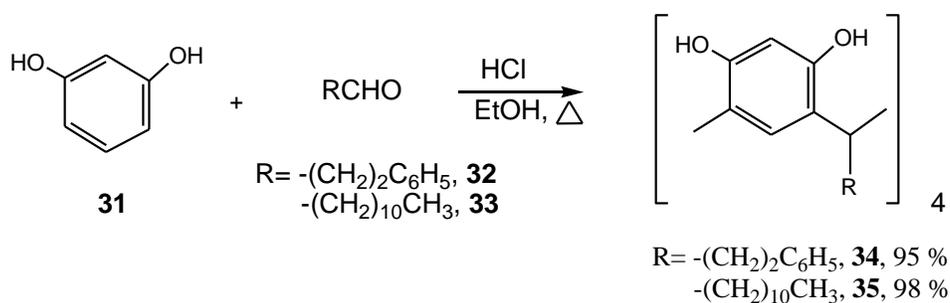
Cada uno de los compuestos obtenidos en las diferentes etapas de síntesis fueron caracterizados y elucidados por las técnicas espectroscópicas de RMN de ^1H y ^{13}C , FTIR, UV-vis, así como por espectrometría de masas y análisis elemental, los datos espectroscópicos se encuentran reportados en el capítulo 5. A continuación solo se describe el análisis de resultados de cada una de las etapas de síntesis, con un ejemplo detallado de alguno de los compuestos sintetizados.

6.1 OBTENCIÓN DE RESORCINAREN-DENDRÍMEROS

6.1.1 Obtención del núcleo o centro dendrítico

La síntesis de los dendrímeros se realizó a través del método divergente, por lo que la síntesis se inició con la obtención de los núcleos ó centros dendríticos; los resorcinarenos (compuestos **34** y **35**). Los macrociclos se obtuvieron mediante una reacción en una sola etapa a través de la reacción del resorcinol **31** con hidrocinaldehído **32** o dodecanaldehído **33**, en medio ácido, esquema 22.

La conformación de los macrociclos en la síntesis de los resorcinarenos depende del tamaño o volumen del aldehído y de las condiciones de reacción como son la temperatura, el disolvente empleado, etc. En este trabajo, se utilizaron aldehídos de cadena larga para hacer la reacción estereoselectiva y así obtener solamente el estereoisómero *rccc*.



Esquema 22. Síntesis de los macrociclos **34** y **35**

Los compuestos **34** y **35** fueron caracterizados inicialmente por resonancia magnética nuclear y en la figura 38 se muestra el espectro de RMN ^1H del compuesto **34**, en donde se pueden observar una señal ancha a 2.52 ppm asignados a los metilenos del grupo etilo, un triplete a 4.33 ppm que corresponde al metino puente con una constante de acoplamiento $J = 6.8$ Hz, dos singuletes a 6.25 y 7.04 ppm que corresponden a los protones aromáticos del macrociclo, es decir al protón *orto* a los grupos hidroxilo y el protón *orto* a los metinos puente, respectivamente. Un multiplete de 7.10-7.31 ppm que fue asignado a los protones aromáticos del anillo bencénico que se encuentra en la parte inferior del macrociclo, y finalmente a 7.45 ppm la señal que corresponde a los grupos hidroxilo del macrociclo.

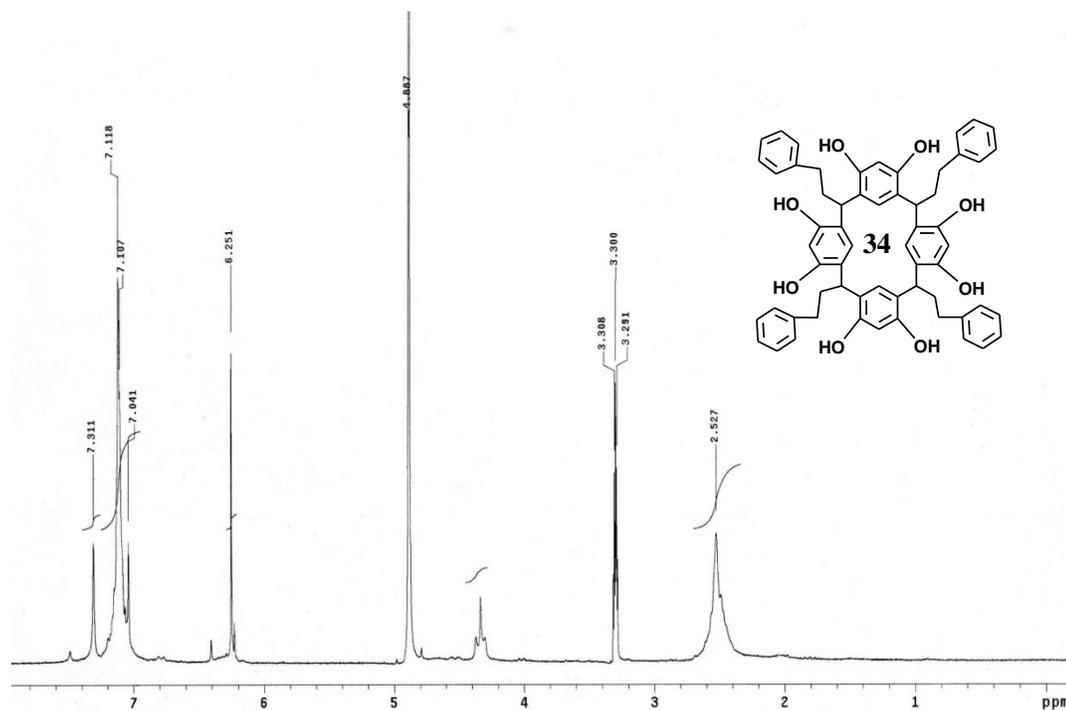


Figura 38. Espectro de RMN ^1H del macrociclo **34**

Por otra parte en el espectro de RMN ^1H del compuesto **35**, se observaron dos señales anchas a 0.9 y 1.28 ppm asignadas a los metilos y metilenos de la cadena alifática; a 4.25 ppm un triplete asignado al metino puente con una constante de acoplamiento $J = 7.0$ Hz, a 4.58 ppm un singulete correspondiente a los hidroxilos del macrociclo y finalmente a 6.20 y 7.17 ppm dos singuletes asignados a los protones aromáticos del macrociclo, figura 39.

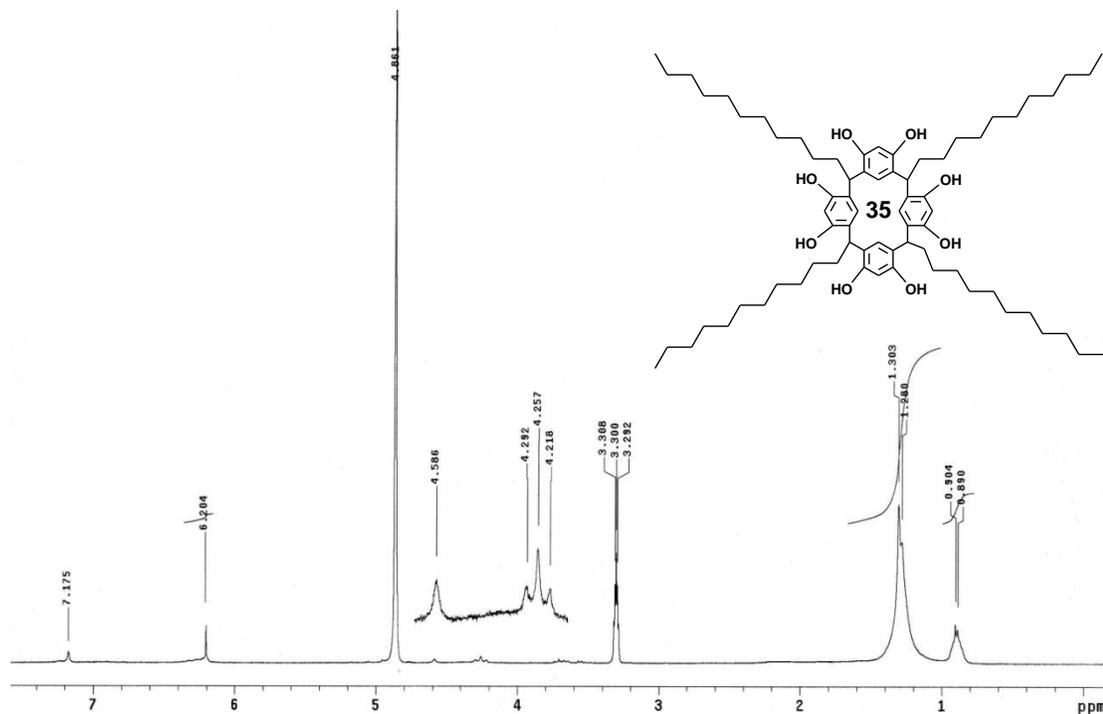
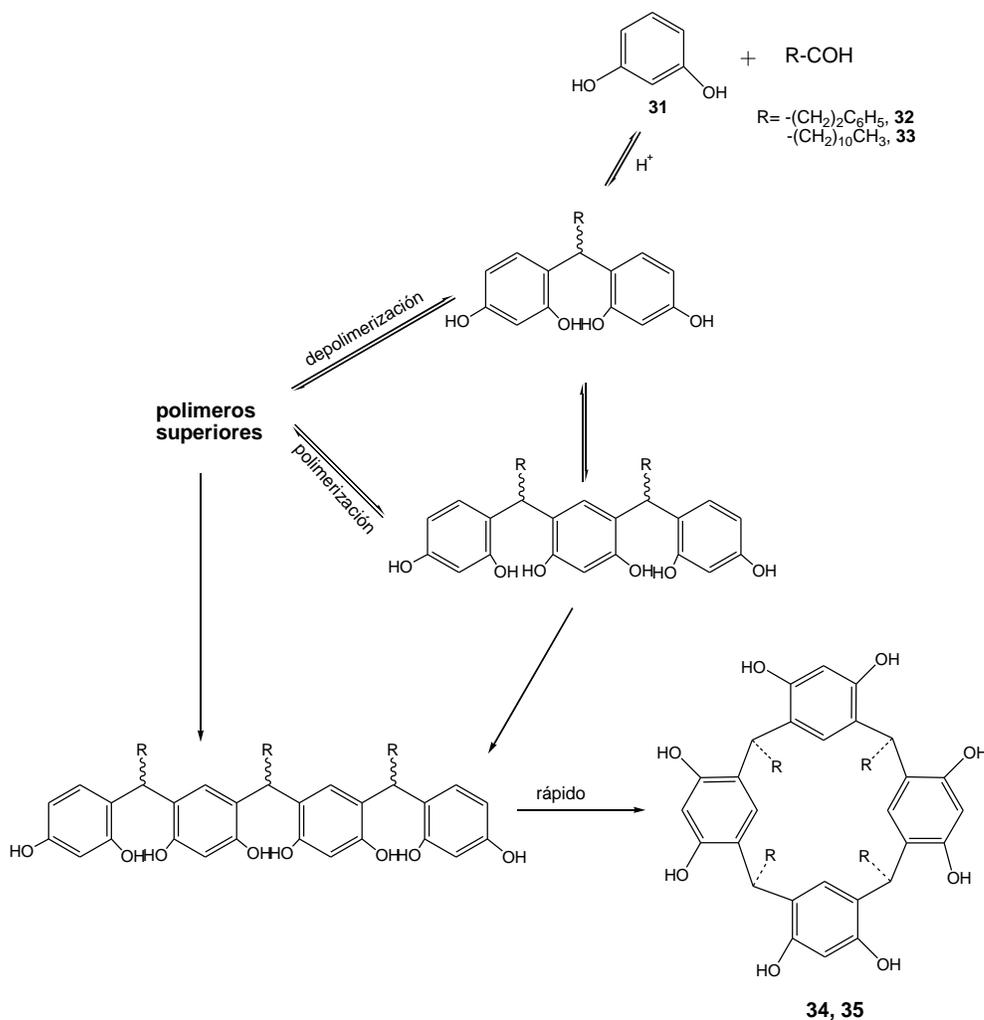


Figura 39. Espectro de RMN ^1H del macrociclo **35**

De acuerdo a los resultados obtenidos en resonancia magnética nuclear RMN ^1H de los compuestos **34** y **35** en donde se observó únicamente la presencia de dos singuletes para los protones de los anillos aromáticos y por otra parte un triplete asignado al proton de los metinos puente del anillo macrocíclico, es podemos llegar a la conclusión de que los macrociclos presentan la conformación de corona tipo *rccc*, misma que garantiza la ausencia de impedimento estérico en la construcción de los dendrímeros.

Mecanismo de reacción

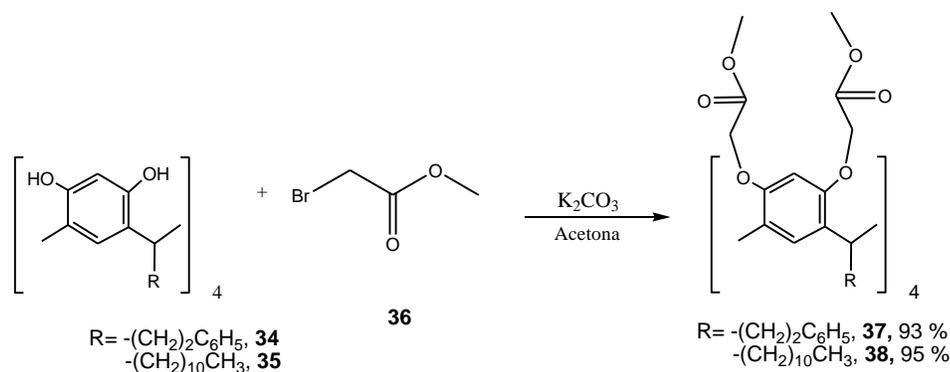
El mecanismo de reacción para la formación del macrociclo, tal como lo sugieren Weinelt y Schneider⁶⁴ involucra la formación de oligómeros que desaparecen en gran medida al final de la reacción, ya que la reacción de condensación es reversible en las condiciones utilizadas, esquema 23. La ciclación rápida está relacionada con su conformación, de acuerdo a cálculos realizados con mecánica molecular, se pliega rápidamente, como consecuencia de la habilidad para formar puentes de hidrógeno entre los grupos hidroxilo del fenol con las unidades adyacentes del resorcinol. De acuerdo a reportes previos⁶² al emplear aldehídos de alto peso molecular, el anillo del macrocíclico adquiere la conformación de corona.



Esquema 23. Formación de los resorcinarenos 34 y 35

6.1.2 Obtención de los resorcinaren-dendrimeros G 0.5

Se realizó la funcionalización de los ocho grupos hidroxilos de los compuestos **34** y **35**, mediante una *O*-alquilación con metil bromoacetato **36** en medio básico, dando como resultado la formación de ocho grupos ésteres en la parte superior de los macrociclos; compuestos **37** y **38**, esquema 24.



Esquema 24. Síntesis de los resorcinaren-dendrimeros de generación 0.5

Los compuestos **37** y **38** fueron caracterizados inicialmente por espectroscopía de infrarrojo. En la figura 40 se muestra el espectro de infrarrojo del compuesto **37**, en donde se observan a 2923 y 2852 cm^{-1} las bandas características a las vibraciones C-H de los metilos y metilenos de las cadenas alifáticas unidas al metino puente del macrociclo, además de las señales en 1443, 1377 y 719 cm^{-1} . Por otra parte en 1763 cm^{-1} se observa la señal que corresponde al C=O de los grupos ésteres que se encuentran en la parte superior del macrociclo, finalmente en 1588 y 680 cm^{-1} las señales que corresponden a C=C de los anillos aromáticos.

En el espectro de la figura 40 se puede observar la ausencia de señales anchas en aproximadamente 3300-3500 cm^{-1} , características de los grupos -OH libres de los anillos fenólicos, confirmando de esta forma que se llevó a cabo la *O*-alquilación en todos los hidroxilos del macrociclo.

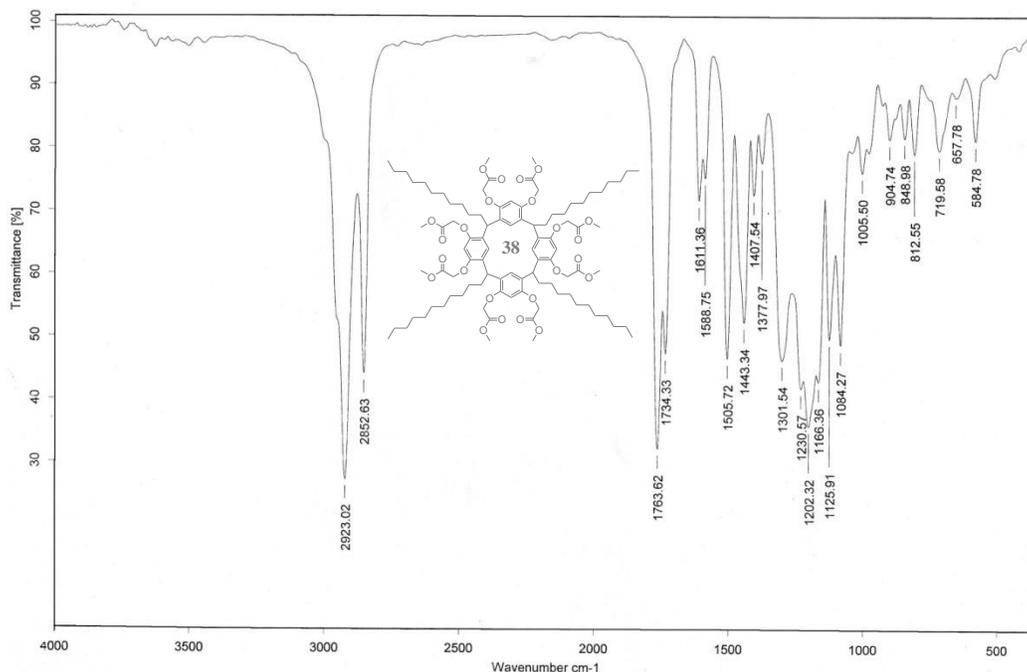


Figura 40. Espectro de infrarrojo del resorcinaren-dendrímico **38**

La obtención del compuesto **38**, fue confirmada por espectrometría de masas mediante ionización por MALDI TOF (Matrix-assisted laser desorption/ionization (MALDI), time-of-flight (TOF)). En la figura 41 se muestra el espectro de masas, en el que se observa el pico a $1705\ m/z$, correspondiente al ión molecular más 23 unidades de masa, es decir el compuesto **43** se encuentra formando un aducto con un catión de sodio, $[M+Na]^+$.

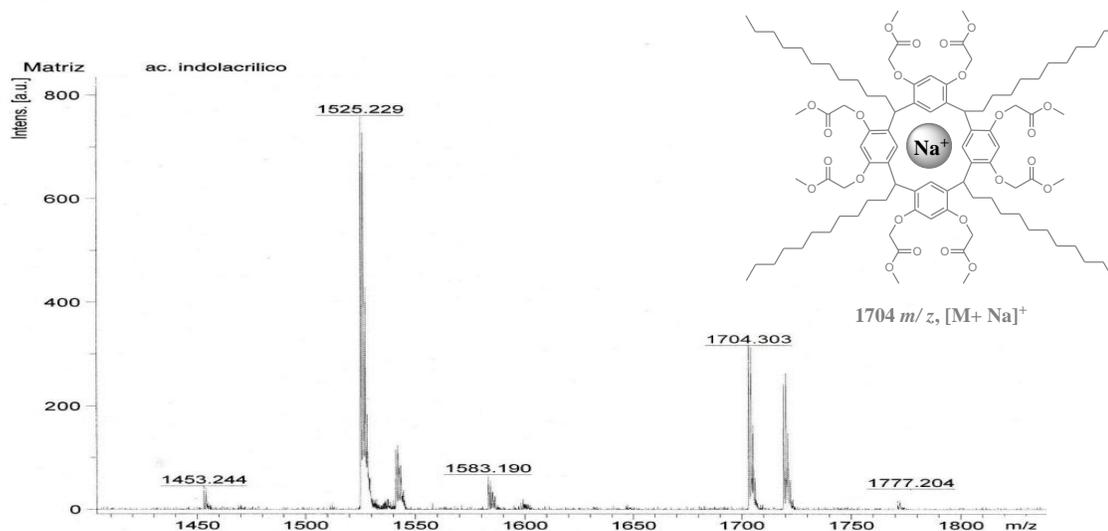
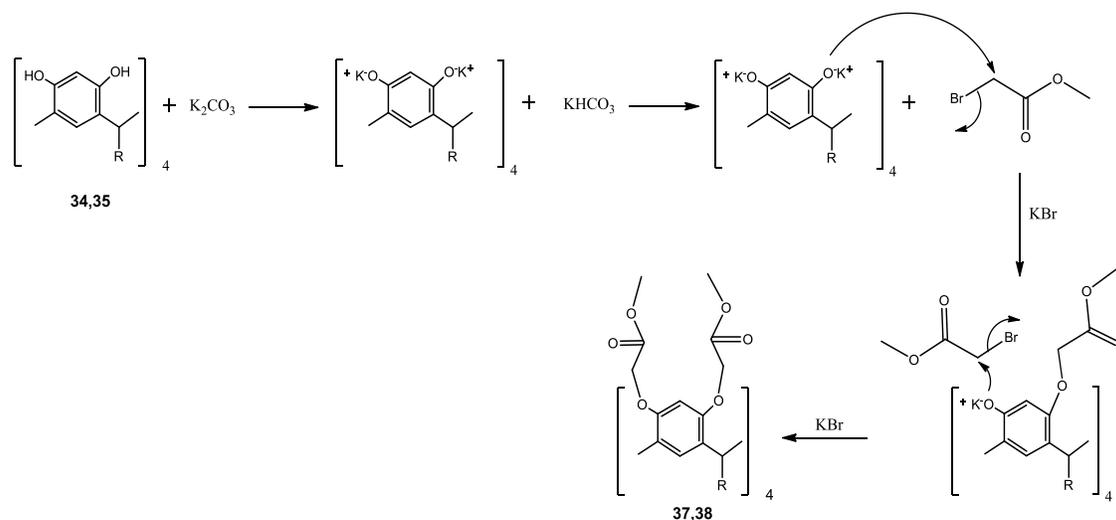


Figura 41. Espectro de masas, ionización por MALDI-TOF del compuesto **38**

Mecanismo de reacción

El mecanismo de reacción para la formación de los compuestos **37** y **38**, se describe brevemente en el esquema 25, el cual se inicia con una reacción ácido-base de los compuestos **34** o **35** con K_2CO_3 , que origina la formación de iones fenóxido y bicarbonato de potasio, el ión fenóxido realiza un ataque nucleofílico vía S_N2 al halogenuro de alquilo secundario con la respectiva eliminación del ión bromuro, obteniendo como productos de reacción el KBr y los compuestos **37** o **38** monoalquilados. Por otra parte el fenóxido libre realiza el ataque nucleofílico a otra molecula de metil bromoacetato para obtener el anillo aromático dialquilado y el KBr, quedando en la periferia del macrociclo ocho grupos esteres que pueden ser nuevamente funcionalizados.



Esquema 25. Mecanismo de reacción para la formación de los compuestos **37** y **38**

6.1.3 Obtención de resorcinaren-dendrimeros G 1.0

Los resorcinaren-dendrimeros de generación 0.5, se usaron como materia prima para la obtención de los resorcinaren-dendrimeros de primera generación (G1.0), a través de una amonólisis de los ésteres terminales con etilendiamina **39** en metanol, a reflujo. Con esta reacción se obtuvieron los compuestos **40** y **41**, esquema 26. Los compuestos **40** y **41** se obtuvieron con rendimientos del 93 y 95 % respectivamente.

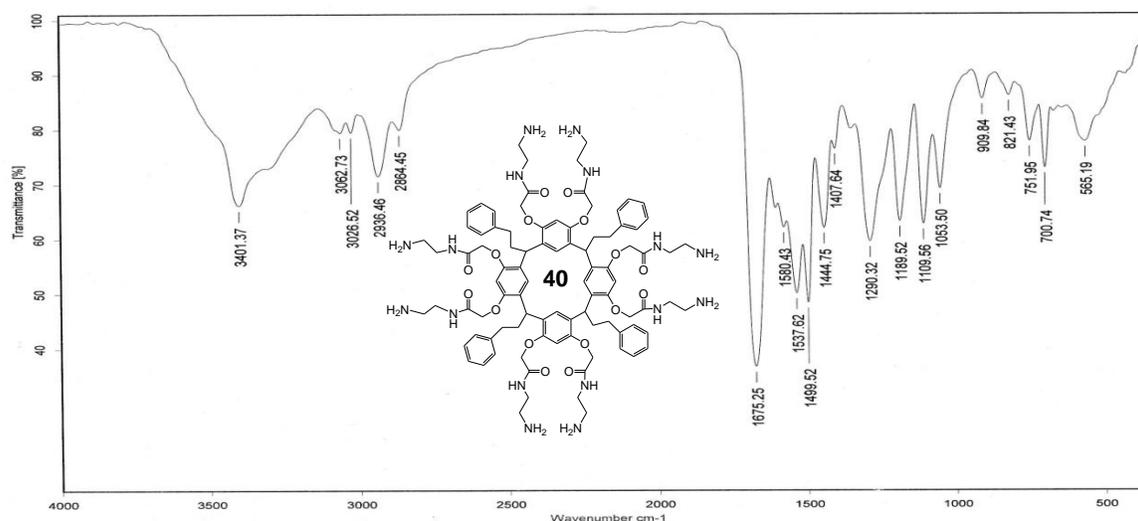


Figura 42. Espectro de Infrarrojo del compuesto **40**

Por otra parte el compuesto **40** fue caracterizado por RMN ^1H , en el espectro figura 43 de se pueden observar tres señales anchas a 0.86, 1.21 y a 1.95 ppm asignadas a los metilos y metilenos de la cadena alifática; a 2.90 ppm una señal ancha correspondiente a los grupos $\text{CH}_2\text{-NH}_2$, a 3.40 ppm un singulete asignado a los protones de los grupos $\text{CH}_2\text{-NH}$, a 4.58 ppm un singulete correspondiente a los grupos $\text{CH}_2\text{-O}$, 4.71 ppm un triplete asignado al metino puente con una constante de acoplamiento $J= 7.0$ Hz., a 5.89 ppm una señal ancha correspondiente a los protones del grupo NH , y finalmente a 6.49 y 7.25 ppm dos singuletes asignados a los protones aromáticos del macrociclo.

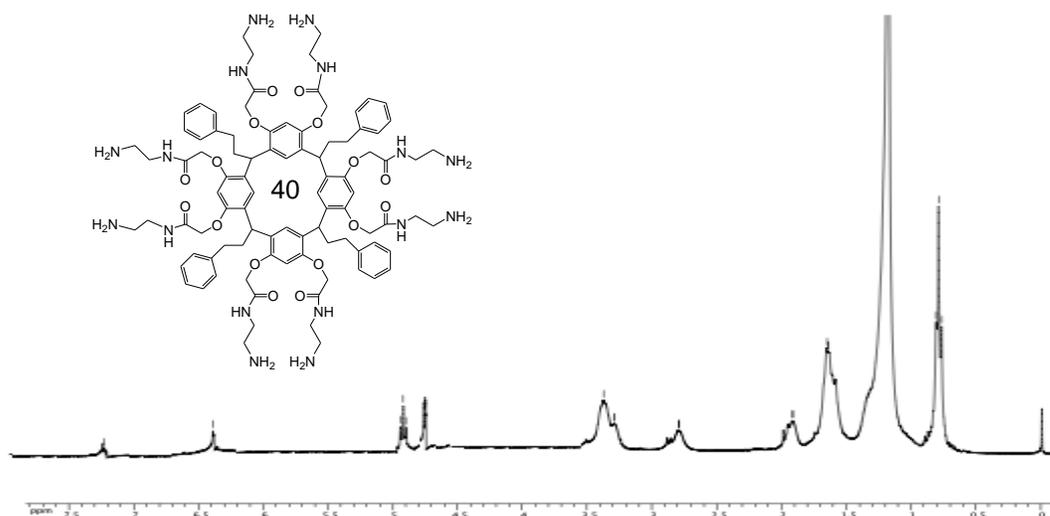
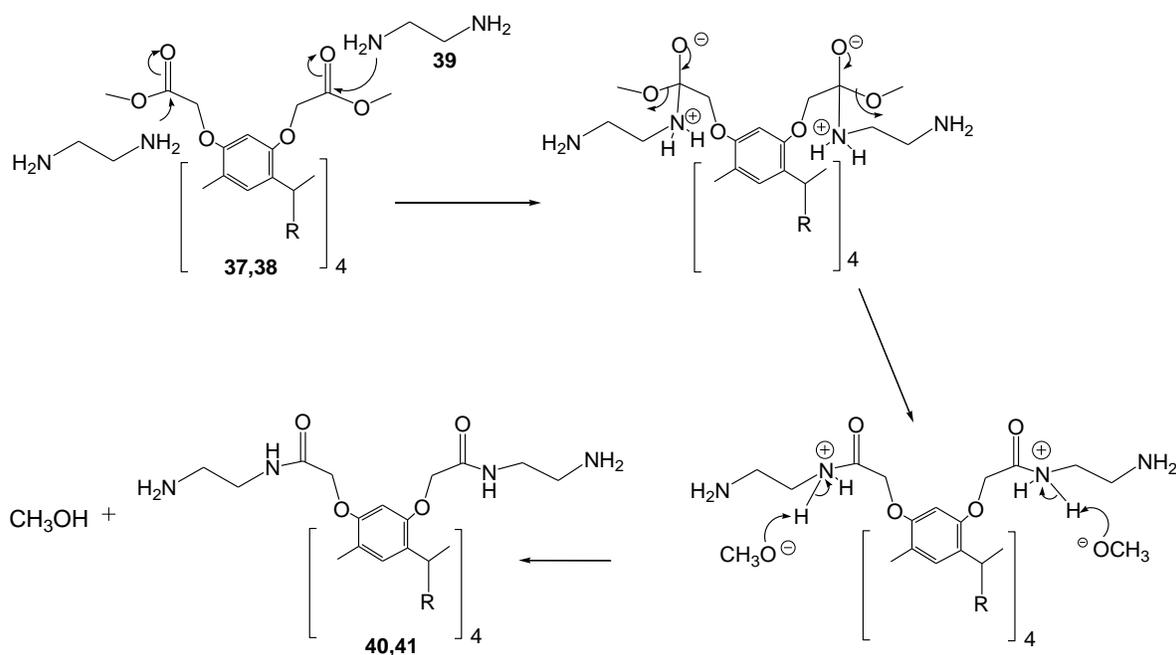


Figura 43. Espectro de RMN de ^1H del compuesto **40** en CDCl_3

Mecanismo de reacción

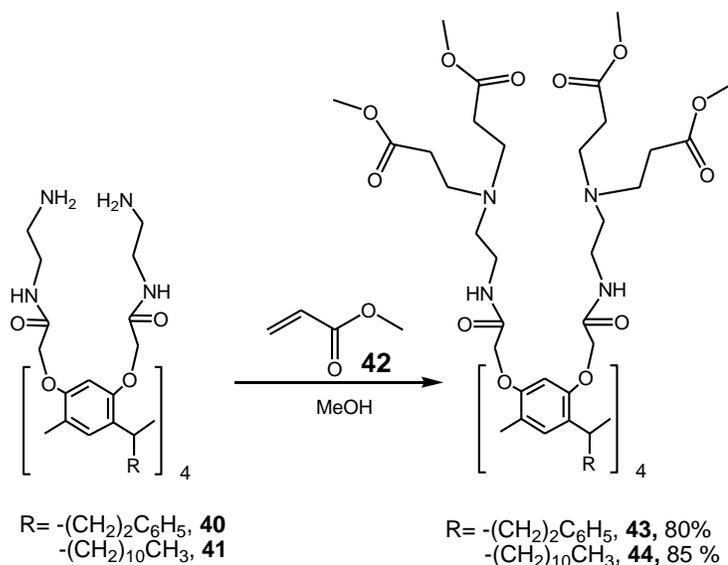
En el esquema 27 se describe brevemente el mecanismo de reacción. La formación de la amida se lleva a cabo mediante una sustitución nucleofílica en el grupo acilo de los ésteres que se encuentran en los brazos dendríticos del macrociclo, el mecanismo se inicia con el ataque nucleofílico de la amina primaria al carbono electrofílico del carbonilo, que genera la formación de un intermediario tetraédrico, con carga negativa en el oxígeno y carga positiva en el nitrógeno cuaternario, posteriormente el oxígeno del carbonilo cede un par de electrones para formar la doble ligadura del carbonilo y generar la eliminación del grupo metoxilo, finalmente el grupo metoxilo abstrae un protón de la amina cuaternaria, obteniendo los productos deseados **40-41** y metanol, véase esquema 27.



Esquema 27. Mecanismo de reacción para la formación de los compuestos **40** y **41**

6.1.4 Obtención de resorcinaren-dendrimeros G 1.5

La obtención de los resorcinaren-dendrimeros de generación 1.5 se llevó a cabo mediante una reacción tipo Michael, a través de la reacción de los compuestos **40** y **41** con acrilato de metilo **42** en metanol, esquema 28. Los productos de reacción **43** y **44**, fueron obtenidos en rendimientos del 80 y 85 % respectivamente.



Esquema 28. Síntesis de los resorcinaren dendrimeros de generación 1.5

La obtención del compuesto **43**, se corroboró mediante resonancia magnética nuclear ^1H y ^{13}C . En el espectro de RMN de ^{13}C de la figura 44, en la región de 32.2 a 70.0 ppm se observan las señales asignadas a los metilenos del brazo dendrítico y de la cadena alifática unida a los metinos puentes del macrociclo; por ejemplo: a 37.1 ppm se observa la señal asignada a los grupos $\text{-CH}_2\text{-NH}$, a 49.2 ppm la señal correspondiente al grupo $\text{-CH}_2\text{-N}$, y a 68.4 ppm la señal asignada a los grupos $\text{O-CH}_2\text{-}$, en esta región también se encuentran los metinos puente en 34.2 ppm y la señal asignada a los metoxilos terminales en 51.5 ppm. De la región de 100-155 ppm las señales asignadas a los protones aromáticos del macrociclo y de los anillos aromáticos de la parte inferior del dendrímico, finalmente a campo bajo se encuentran las señales asignadas a los grupo C=O , a 167.9 ppm la correspondiente al carbonilo de la generación 0.5, y a 172.9 ppm el carbonilo terminal que corresponde a la generación 1.5.

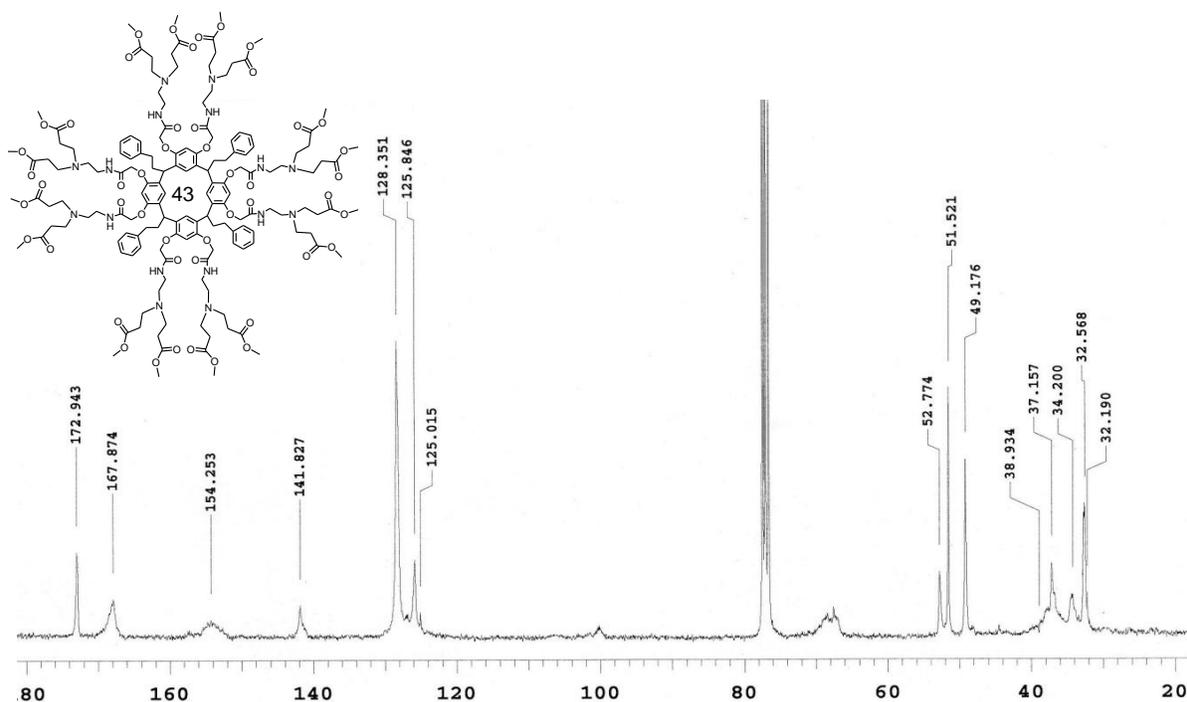
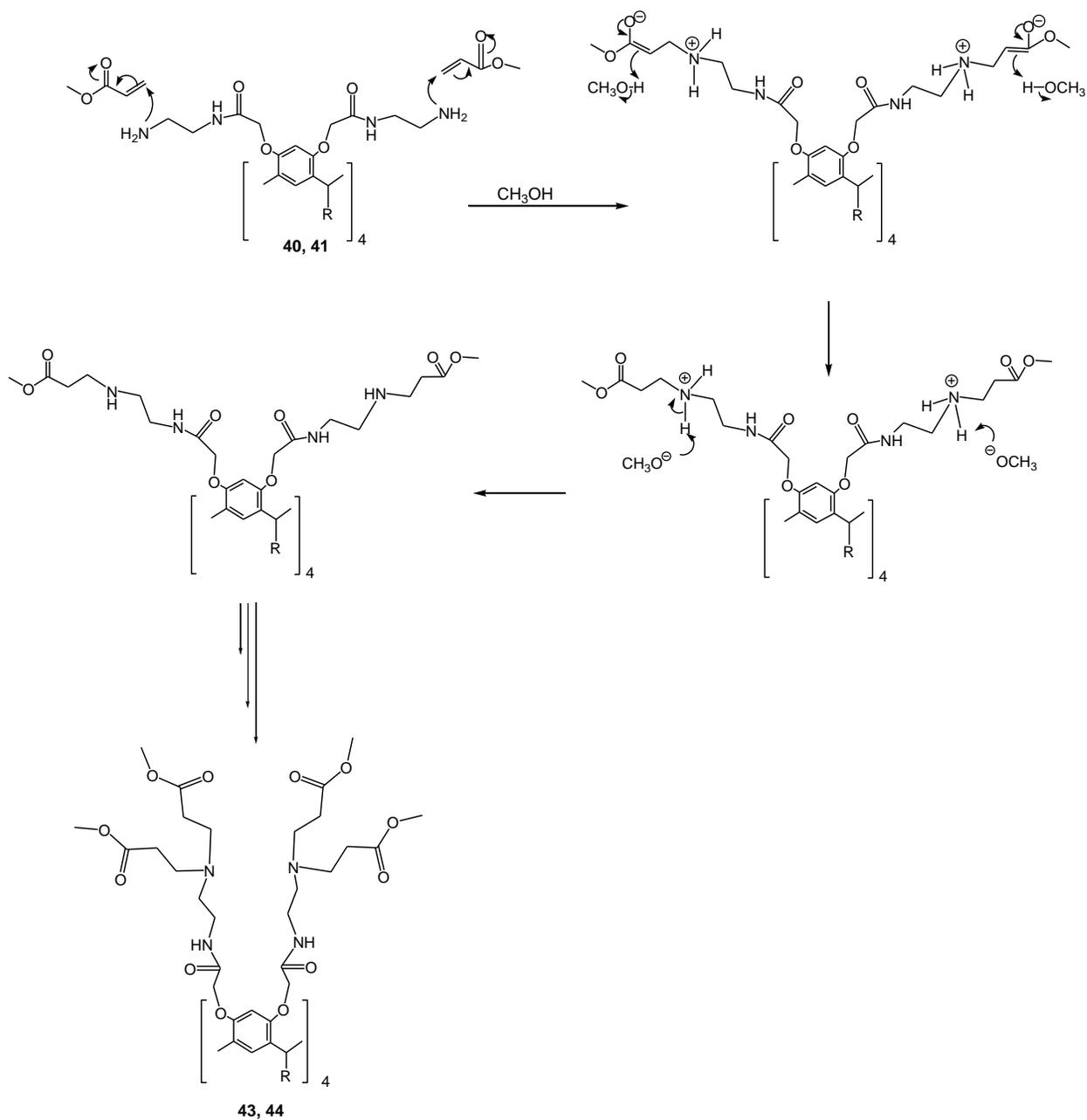


Figura 44. Espectro de RMN ^{13}C del resorcinaren-dendrímtero G 1.5 compuesto 43

Mecanismo de reacción

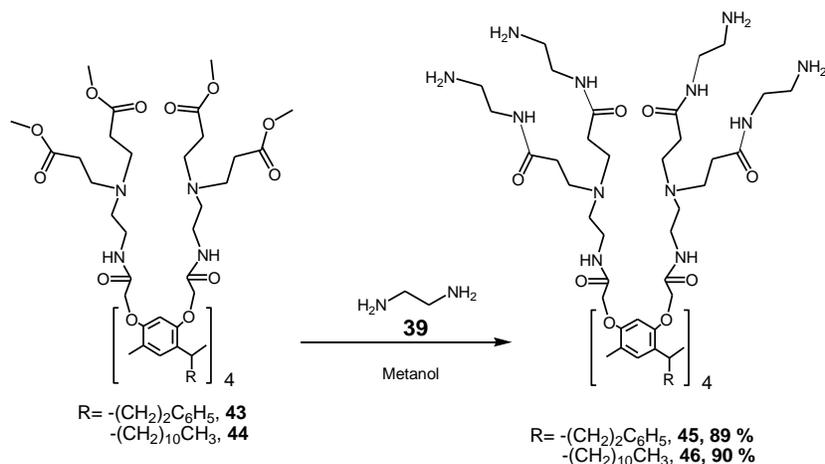
El mecanismo de reacción, para la formación de los compuestos 43 y 44 inicia con la adición de la amina primaria al carbono β del compuesto carbonílico α,β -insaturado, seguido de la abstracción de un protón del disolvente por el carbono α del compuesto α,β -insaturado, finalmente la base conjugada del disolvente abstrae un protón de la amina cuaternaria, obteniendo como producto la amina mono-sustituida. Con la repetición de los pasos descritos anteriormente se obtienen las aminas di-sustituidas, esquema 29.



Esquema 29. Mecanismo de reacción para la obtención del resorcinaren-dendrímtero de generación 1.5

6.1.5 Obtención de resorcinaren-dendrímtero G 2.0

Los dendrímeros de segunda generación se obtuvieron empleando la metodología descrita para los dendrímeros de primera generación; es decir mediante la reacción de los compuestos **43** o **44** con etilendiamina **39** a reflujo en metanol, esquema 30.



Esquema 30. Síntesis de los resorcinaren-dendrímteros G 2.0

Los compuestos **45** y **46** fueron caracterizados por las diferentes técnicas espectroscópicas, a forma de ejemplo en la figura 45 se muestra el espectro de resonancia magnética nuclear de carbono del compuesto **46**. En el espectro se observa una señal asignada a los metilos terminales de la cadena alifática a 14.1 ppm, en la región de 22.7 a 31.2 ppm se observan las señales asignadas a los metilenos de la cadena alifática unida al metino puente del macrociclo, a 34.0 ppm se encuentra la señal asignada al metino puente, de la región de 37.0 a 69.0 ppm se observan las señales asignadas a los metilenos de los brazos dendríticos, el metileno unido a oxígeno se observa a 68.9 ppm, en la región de 96.0 a 156.0 ppm se encuentran las señales asignadas a los protones aromáticos del macrociclo y finalmente a 169.2 y 173.7 ppm las dos señales correspondientes a los grupos carbonílicos de los brazos dendríticos.

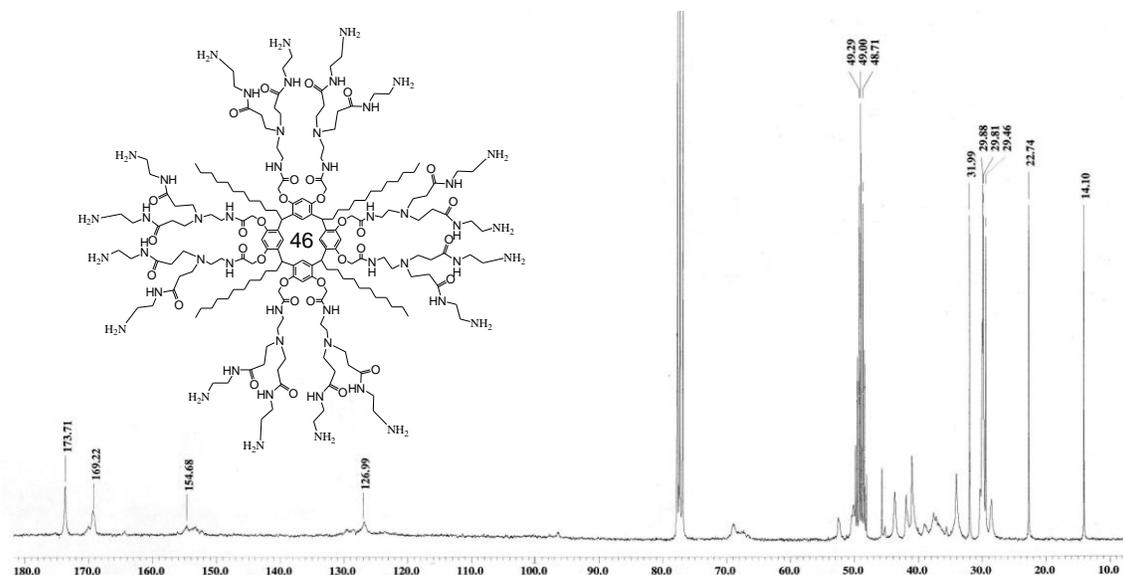


Figura 45. Espectro de RMN ^{13}C del compuesto **46**, resorcinaren-dendrímtero G 2.0, en cloroformo-metanol

La obtención del compuesto **46**, fue confirmada por espectrometría de masas mediante ionización por MALDI-TOF. En la figura 46 se muestra el espectro de masas, en el que se puede observar un pico a 3768.623 m/z , correspondiente al ión molecular del compuesto **46** más 23 unidades de masa, que corresponde al aducto formado entre el compuesto **46** y un catión de sodio, $[\text{M} + \text{Na}]^+$.

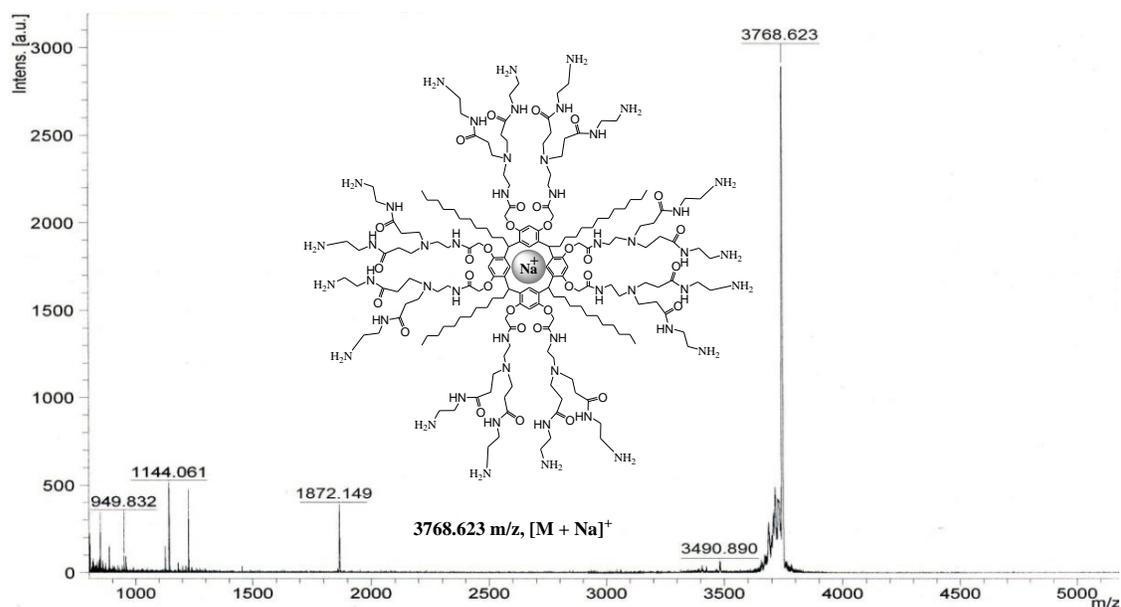


Figura 47. Espectro de MS-MALDI del compuesto **46**, resorcinaren-dendrímtero G 2.0

Con base en los resultados obtenidos mediante resonancia magnética nuclear de ^1H , ^{13}C , FTIR, UV-vis, espectrometría de masas, así como análisis elemental, se concluye que se obtuvieron satisfactoriamente los resorcinaren-dendrimeros con ramificaciones tipo poliamidoamina de primera y segunda generación y que los resorcinarenos usados como núcleos o centros dendríticos conservan su conformación de corona tipo *rccc*.

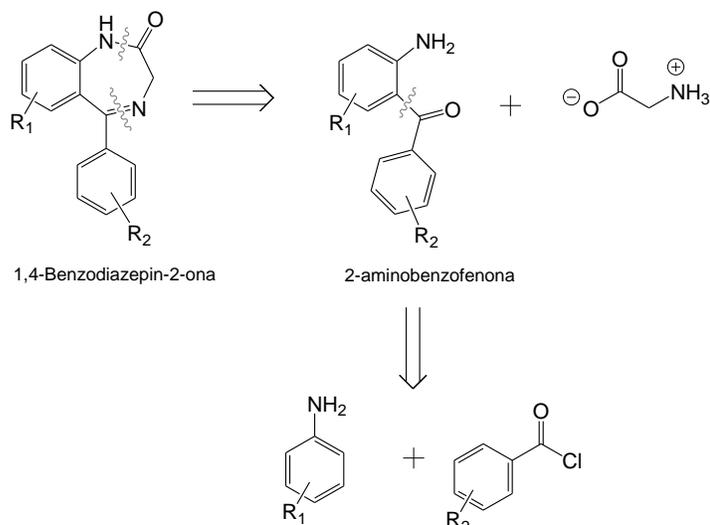
6.2 OBTENCIÓN DE 1,4-BENZODIAZEPIN-2-ONAS

Entre las alternativas sintéticas para la obtención de las 1,4-benzodiazepinas que han sido reportadas en la literatura, es el uso de ácidos 2-aminobenzoicos y sus derivados, ó bien derivados de 2-aminobenzofenona¹⁷⁵ como precursores para la formación del anillo 1,4-benzodiazepínico, tal como se muestra en el análisis retrosintético del esquema 31. Por otra parte, entre los métodos de preparación¹⁷⁶ de 2-aminobenzofenonas se encuentra la reacción de reactivos de aril-Grignard con 2-nitro o 2-aminobenzaldehidos, así como la reacción de Friedel y Crafts de derivados del ácido antranílico con compuestos arilo o bien la acilación de Friedel y Crafts para anilinas sustituidas, siendo esta última la metodología empleada en el presente trabajo.

La síntesis de los derivados de 2-aminobenzofenona se llevó a cabo mediante la reacción de acilación de Friedel y Crafts en fase heterogénea, usando como ácido de Lewis el cloruro de zinc anhidro **47**, sección 6.2.1. La selección de esta metodología se debe a que previamente se realizaron algunas pruebas en el proceso de síntesis, como el uso de diferentes ácidos de Lewis; tal como el cloruro de zinc **47**, tricloruro de aluminio **100**, y óxido de zinc **101**, cabe señalar que para estos ensayos solo se usaron tres cloruros de benzoilo (**50**, **55** y **56**) y las dos *p*-nitroanilinas (**48** y **49**), tal como se muestra en el esquema 32.

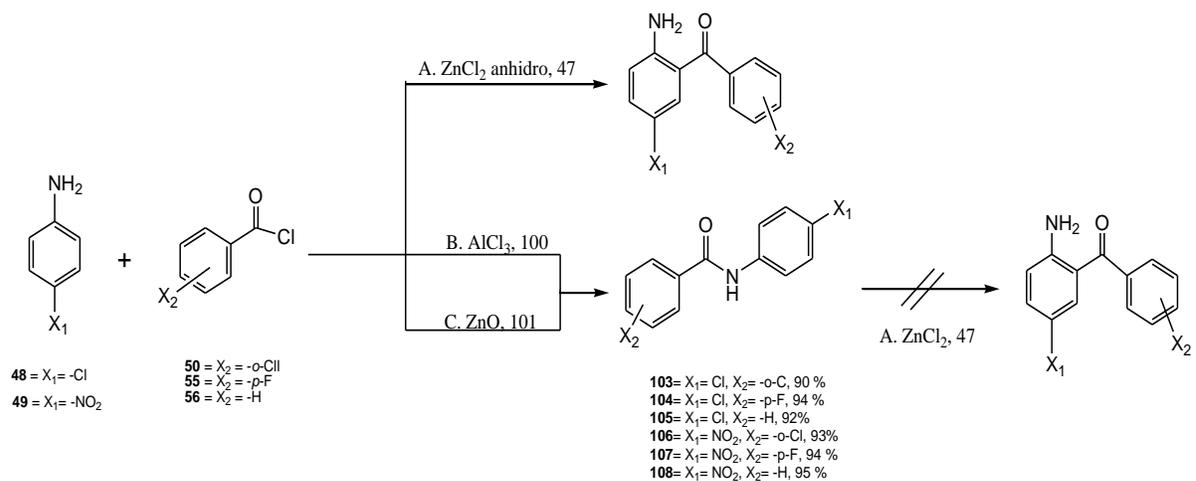
¹⁷⁵ a) N. Blazevic, F. Kajfez; *J. Heterocycl. Chem.* **1971**, 8, 845; b) T. Sugawara, M. Adachi, T. Toyoda; K. Sasakura, *J. Heterocycl. Chem.* **1979**, 16, 445; c) J. L. Castro, H. B. Broughton, M. G. N. Russell, D. Rathbone, A. P. Watt, R. G. Ball, K. L. Chapman, S. Patel, A. J. Smith, G. R. Marshall, V. G. Matassa, *J. Med. Chem.* **1997**, 40, 291; d) A. Nadin, J. M. Sánchez-López, A. P. Owens, D. M. Howells, A. C. Talbot, T. Harrison, *J. Org. Chem.* **2003**, 68, 4582; e) A. G. Griesbeck, W. Kramer, J. Lex, *Synthesis*, **2001**, 1159.

¹⁷⁶ D. A. Walsh, *Synthesis*, **1980**, 677.



Esquema 31. Análisis retrosintético para la obtención de 1,4-benzodiazepinas

En el esquema 32 se observa que el uso de AlCl_3 **100** y ZnO **101** como ácidos de Lewis, que conllevan a la producción directa de la amida correspondiente con rendimientos alrededor del 90 %. Otra alternativa que se planteó, fue proteger a la anilina mediante la formación de la amida con el cloruro de bencilo correspondiente y consecutivamente someterla al proceso de acilación con el ZnCl_2 para obtener la 2-aminobenzofenona, sin embargo la formación de la amida no permitió que dicha acilación se llevara a cabo. Por lo que la única vía que generó los compuestos deseados fue el uso de ZnCl_2 anhidro como catalizador, haciendo énfasis en que dicho catalizador debe usarse totalmente anhidro, ya que de no ser así, la mínima cantidad de humedad lleva a la producción directa de la amida correspondiente.



Esquema 32. Uso de diferentes catalizadores en la obtención de 2-aminobenzofenonas

Las amidas **103-108** obtenidas mediante las reacciones descritas en el esquema 32, fueron caracterizadas mediante el uso de las diferentes técnicas espectroscópicas, para confirmar su estructura química. Cabe resaltar que del compuesto **108** se lograron crecer cristales en una disolución de diclorometano-acetona, por lo que se confirmó la estructura química mediante el estudio de difracción de rayos X, figura 48.

En la figura 48 se puede observar el arreglo molecular del empaque cristalino y la celda unitaria. En el empaque cristalino se observa la formación de puentes de hidrógeno intermoleculares entre el oxígeno del grupo nitro y el hidrógeno de la amida, con una distancia de enlace de 2.238 Å.

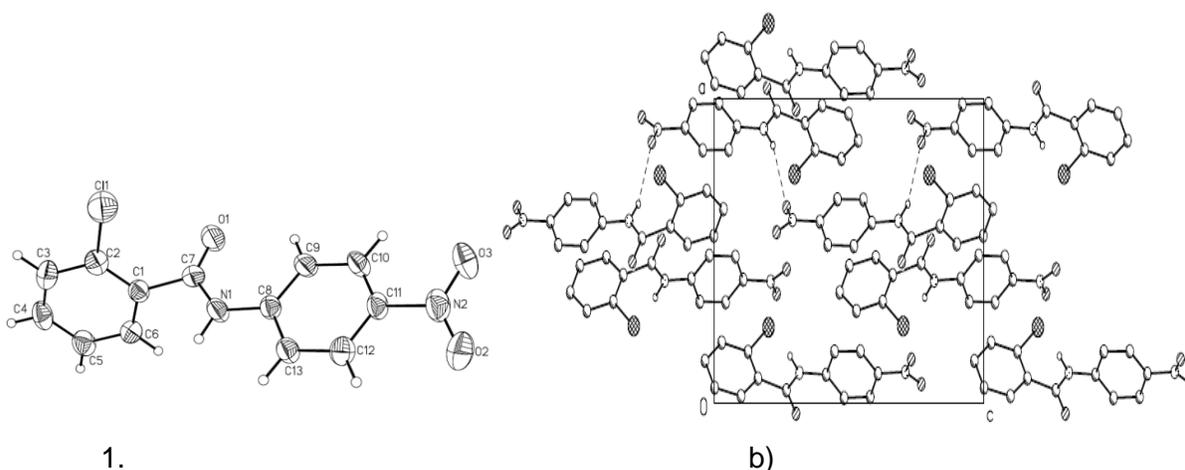
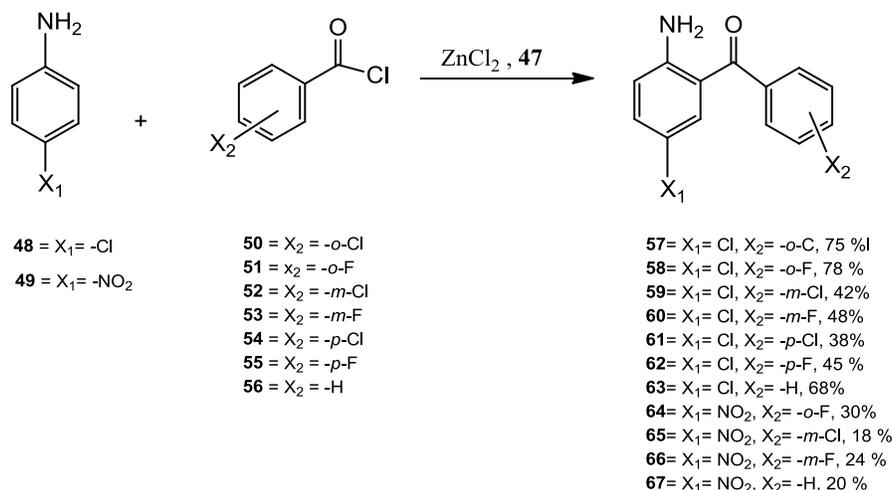


Figura 48. a) Arreglo molecular y b) empaque cristalino y unidad de celda del compuesto 107. Longitud de enlace (Å): C1(1)-C(2) 1.740(3), C(1)-C(7) 1.505(3), N(1)-C(7) 1.346(3), N(1)-C(8) 1.409(3), N(2)-C(11) 1.457(3). Angulo de enlace (°): N(1)-C(7)-C(1) 113.6(2), C(7)-N(1)-C(8) 129.2(2), O(1)-C(7)-N(1) 125.0(2)

6.2.1 Obtención de 2-aminobenzofenonas

De acuerdo a lo descrito previamente, los derivados de 2-aminobenzofenona se obtuvieron a través de una acilación de Friedel y Crafts catalizada por cloruro de zinc anhidro **47**, en fase heterogénea de la *p*-cloroanilina **48** o *p*-nitroanilina **49** con los cloruros de benzoilo sustituidos en las posiciones *orto* (**50,51**), *meta* (**52,53**) y *para* (**54,55**), con cloro o flúor respectivamente, así como con el cloruro de benzoilo sin sustituir **56**, esquema 33. Mediante esta metodología se obtuvieron 11 derivados de 2-aminobenzofenona con rendimientos que van del 18 al 78 %, siendo los compuestos sustituidos en X₁= NO₂ los que presentan los rendimientos más bajos, en un rango del 18-30 %.



Esquema 33 Síntesis de 2-aminobenzofenonas

Inicialmente las 2-aminobenzofenonas fueron caracterizadas por espectroscopía de infrarrojo, ya que mediante esta técnica se puede diferenciar fácilmente entre la producción de 2-aminobenzofenonas o las amidas correspondientes. Dado que las aminas primarias presentan dos bandas de absorción ≈ 3500 y 3400 cm^{-1} mientras que las amidas presentan una sola banda de absorción en la región de 3500 y 3350 cm^{-1} ; otra peculiar diferencia entre este tipo de moléculas es la banda de absorción del grupo C=O, la banda de absorción del carbonilo de amidas aparece $\approx 1650\text{ cm}^{-1}$ mientras que la correspondiente a las cetonas se encuentran a frecuencias más altas, en $\approx 1720\text{ cm}^{-1}$. De forma representativa en la figura 49 se muestra el espectro de infrarrojo del derivado de 2-aminobenzofenona **61**, en donde claramente se pueden observar las señales correspondientes a la amina primaria en 3426 y 3321 cm^{-1} , así como la banda de absorción correspondiente al carbonilo de cetona en 1691 cm^{-1} .

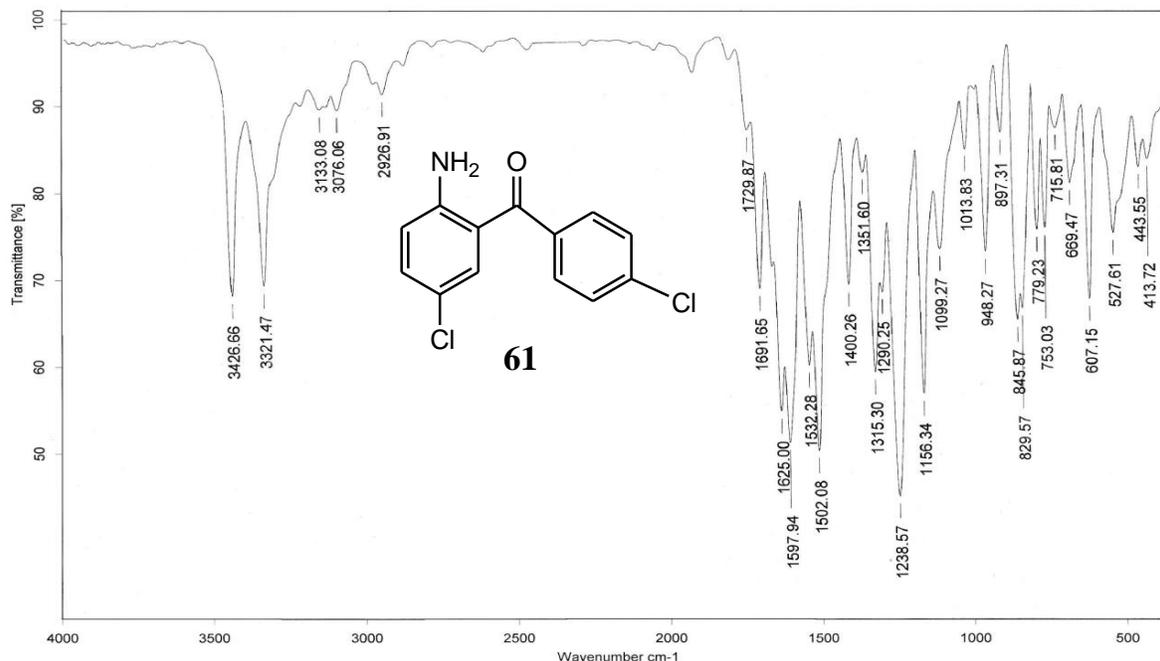


Figura 49. Espectro de infrarrojo del compuesto **61**, derivado de 2-aminobenzofenona

Por otra parte en la figura 50 se muestra el espectro de masas que se obtuvo a través de la ionización electrónica del compuesto **63**. En dicho espectro de masas se pueden observar como picos importantes: al ión molecular $[M]^{++}$ de $231\ m/z$ (98%), el pico base con $230\ m/z$ (100%), que corresponde a la pérdida de $[M-1]^+$, el pico con $233\ m/z$ (65%) que corresponde a $[M+2]^+$ referente a la contribución isotópica del cloro, se observa también el pico que corresponde a la ruptura alfa al carbonilo del anillo A con $154\ m/z$ (60%), y el pico correspondiente a la ruptura alfa al carbonilo del anillo B con $105\ m/z$ (58%), finalmente el pico correspondiente al catión tropilium con $77\ m/z$ (59%), señal característica de la presencia de aromáticos.

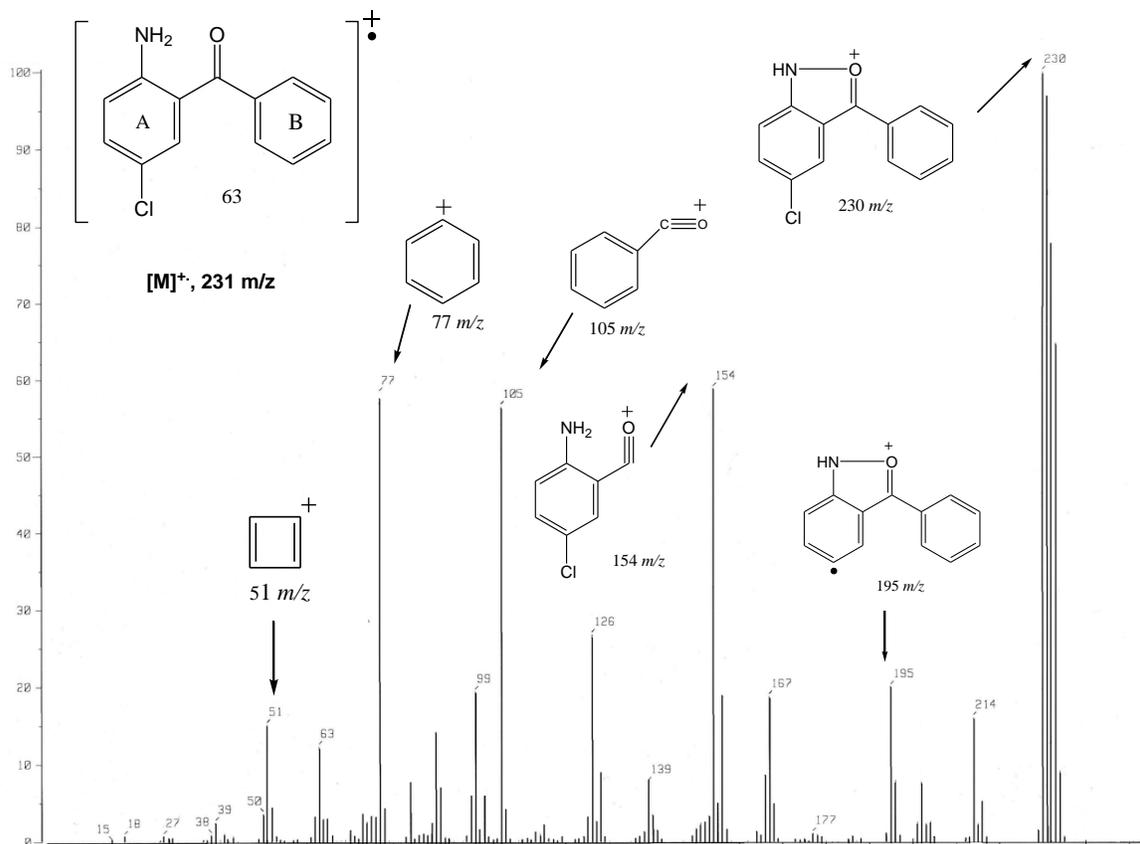
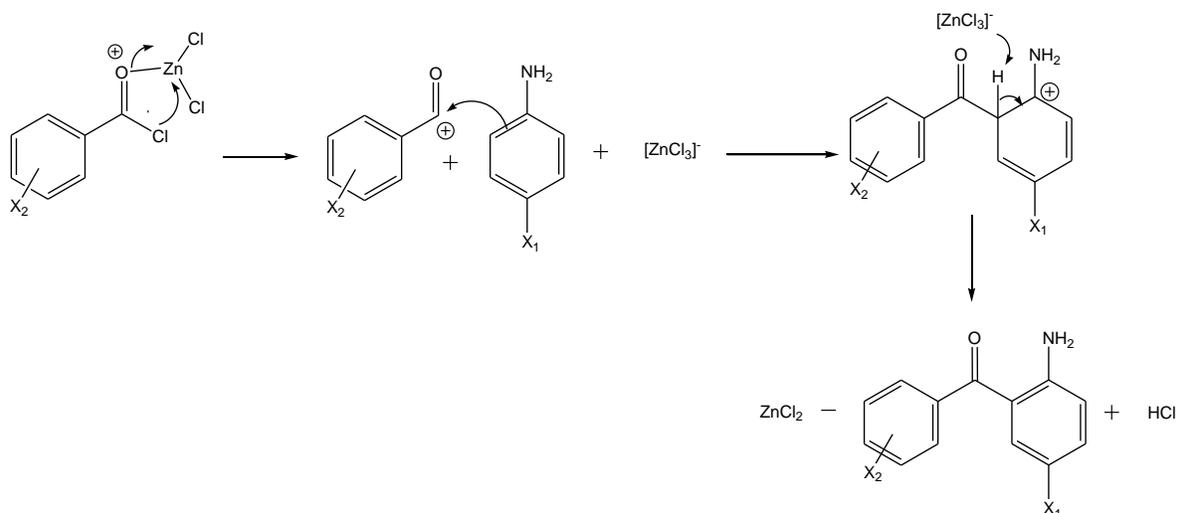


Figura 50. Espectro de masas mediante ionización electrónica del compuesto **63**, derivado de 2-aminobenzofenona

Mecanismo de reacción

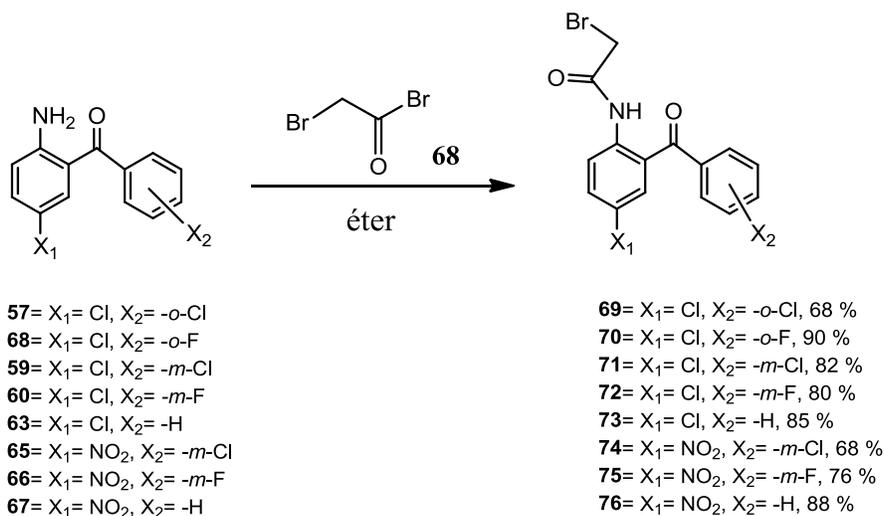
El mecanismo reacción de la acilación de Friedel y Crafts se inicia con la formación de un complejo entre el cloruro de acilo y el cloruro de zinc, la pérdida del ión tricloruro de zinc origina la formación del ión acilio, este ión acilio actúa como electrófilo rápidamente con la anilina sustituida en posición *-para*, originando el producto de acilación, seguida de una desprotonación que restablece la aromaticidad. El producto de la acilación es una cetona, en el que el grupo carbonilo tiene electrones no enlazantes que forman un complejo con el $ZnCl_2$, por lo que la adición de agua hidroliza este complejo dando lugar a la 2-aminobenzofenona libre, esquema 34.



Esquema 34. Mecanismo de reacción para la formación de 2-aminobenzofenonas

6.2.2 Obtención de 2-bromoacetamidobenzofenonas

Se realizó la formación de amidas con las 2-aminobenzofenonas **57-67** y el bromuro de bromoacetilo **68** en éter anhidro, de acuerdo al esquema 35, mediante esta reacción se obtuvieron 8 derivados de 2-bromoacetamidobenzofenonas **69-76**, con rendimientos del 68 al 90%.



Esquema 35. Síntesis de las 2-bromoacetamidobenzofenonas

Todas las 2-bromoacetoamido-benzofenonas fueron caracterizadas por las técnicas espectroscópicas ^1H , ^{13}C , IR, UV-vis, espectrometría de masas y análisis elemental, en el caso del compuesto **69** se lograron crecer cristales de la calidad necesaria para realizar estudios de difracción de rayos-X. En la figura 51 se muestra el arreglo molecular y el empaque cristalino, así como la celda cristalina; en donde se puede observar la formación de puentes de hidrógeno intramoleculares entre N(1)-H(1)...O(1); 1.93(3) Å y N(1)-H(1)...Br(1); 2.48(3) Å, además de un arreglo cristalino por la formación de puentes de hidrógeno N(1)-H(1)...O(1) y las interacciones Br(1)...Br(1). Por otra parte, los enlaces formados entre el carbonilo y los anillos aromáticos presentan una diferencia de enlace de 0.03 Å, siendo el de mayor longitud de enlace el formado entre el (C7)-(C1'), esta diferencia se puede atribuir a que el anillo B presenta una mayor torsión que el anillo A, de acuerdo a los ángulos formados entre (C7)-(C1')-(C6'), 117.3 (3) y C(2)-C(1)-C(7) 122.4(3); a su vez los enlaces C-Cl presentan una diferencia de enlace de 0.012 Å, siendo el de mayor longitud el formado entre el (C5)-(Cl1) presente en el anillo A de la estructura.

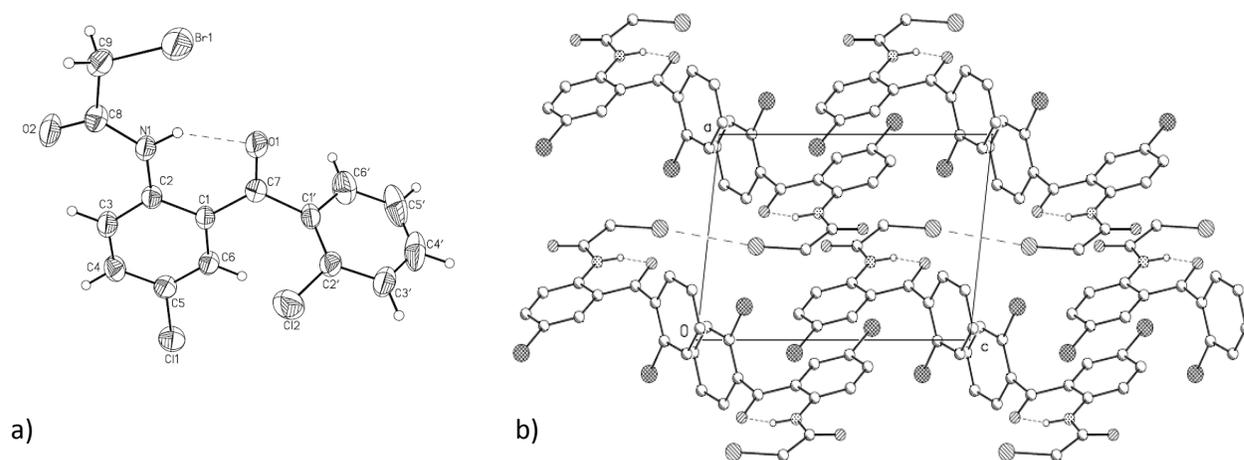
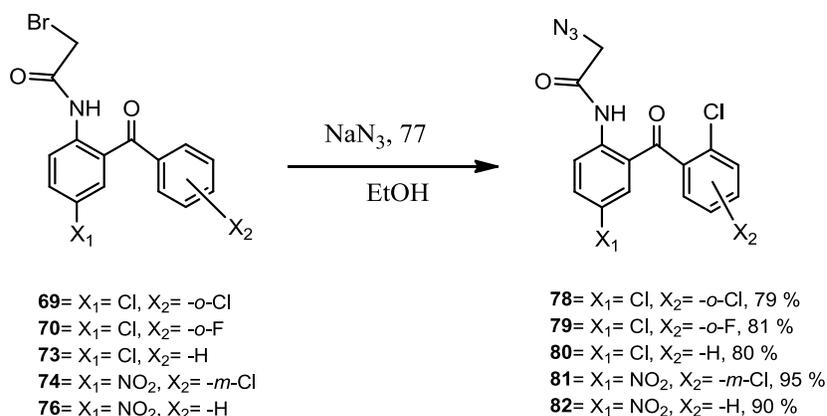


Figura 51. a) Arreglo molecular del compuesto **69**, b) Empaque cristalino y unidad de celda del compuesto **69**. Longitud de enlace (Å): Cl(1)-C(5) 1.741(3); Cl(2)-C(2') 1.729(4); O(1)-C(7) 1.210(4); C(1)-C(7) 1.475(4); C(7)-C(1') 1.505(4); Br(1)-C(9) 1.920(3). Ángulos de enlace (°): C(1)-C(7)-C(1') 121.0(3); C(2)-C(1)-C(7) 122.4(3); C(6')-C(1')-C(7) 117.3(3), N(1)-C(8)-C(9) 116.8(3); C(8)-C(9)-Br(1) 117.7(2)

6.2.3 Obtención de 2-azidoacetamidobenzofenonas

A partir de los derivados de 2-bromoacetamidobenzofenona se realizó la sustitución del bromo por el grupo azida, esta sustitución se realizó con la finalidad de adicionar el nitrógeno faltante para la formación del anillo 1,4-benzodiazepínico. La obtención de los derivados 2-azidoacetamidobenzofenona fue mediante el calentamiento a reflujo de los derivados de 2-bromoacetamidobenzofenona en etanol anhidro y azida de sodio **77**, esquema 36. Con esta metodología se obtuvieron los compuestos **78-82** con rendimientos del 75 al 95%.



Esquema 36. Síntesis de las 2-azidoacetamidobenzofenonas

Del compuesto **78**, se lograron crecer cristales de la calidad necesaria para realizar estudios de difracción de rayos-X. En la figura 52 se muestran dos arreglos moleculares a) y b). En ambos arreglos se puede observar la formación de puentes de hidrógeno intramoleculares entre el N(1)-H(1)...O(1), 1.965(19) Å y el N(5)-H(5A)...O(3), 1.94(2) Å con una diferencia de 0.025 Å de longitud de enlace, diferencia que se puede atribuir a la diferencia que existe entre los ángulos formados entre O(1)-C(7)-C(2), 122.3(2) y el O(3)-C(17)-C(12), 122.8(2), por otra parte la orientación del grupo azida en el arreglo molecular b), permite la formación de puentes de hidrógeno entre N(5)-H(5A)...N(6), 2.19(2) Å además de existir diferencias significativas entre los enlaces N(2)-N(3), 1.269(4) Å y N(6)-N(7) 1.216(4) Å así como en los enlaces N(3)-N(4) 1.090 Å y N(7)-N(8) 1.122(5) Å.

Al realizar una comparación entre los enlaces C-Cl del compuesto **69** y **78** se observa que tienen mayor longitud de enlace los formados en el anillo A, para el compuestos **69** y el arreglo molecular b), mientras que en el caso del arreglo molecular a) el de mayor longitud es el formado en el anillo B. Finalmente en el empaque cristalino, solo el arreglo molecular a), participa en la formación de la unidad de celda, figura 53.

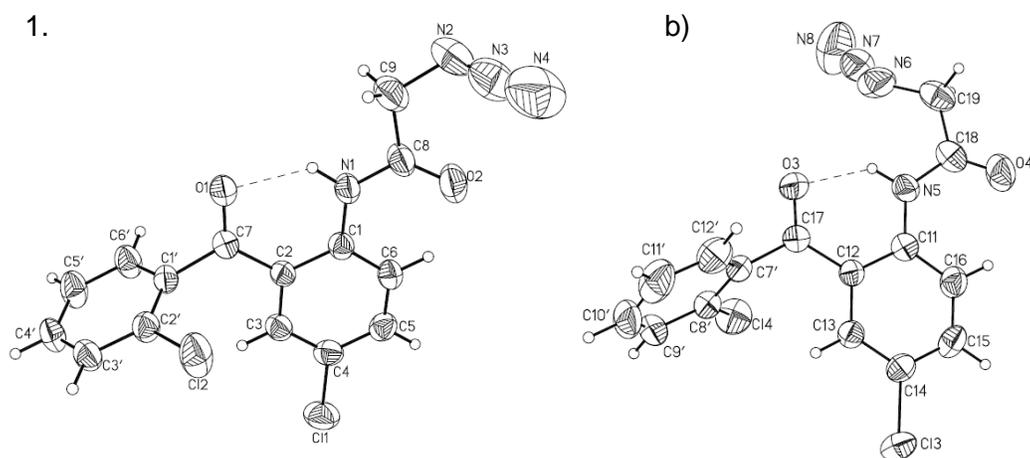


Figura 52. Arreglo molecular a y b del compuesto **78**. Longitud de enlace (Å): C(2)-C(7) 1.476(3); C(12)-C(17) 1.472(3); N(1)-C(1) 1.400(3); N(5)-C(11) 1.398(3); N(2)-C(9) 1.456(4); N(6)-C(19) 1.458(4); N(2)-N(3) 1.269(4); N(6)-N(7) 1.216(4); N(3)-N(4) 1.090(4); N(7)-N(8) 1.122(5); Cl(1)-C(4) 1.735(3), Cl(3)-C(14) 1.747(3); Cl(2)-C(2') 1.742(2); Cl(4)-C(8') 1.726(3). Ángulos de enlace (°): C(6')-C(1')-C(7) 118.1(2); C(12')-C(7')-C(17) 118.4(3); O(1)-C(7)-C(2) 122.3(2); O(3)-C(17)-C(12) 122.8(2)

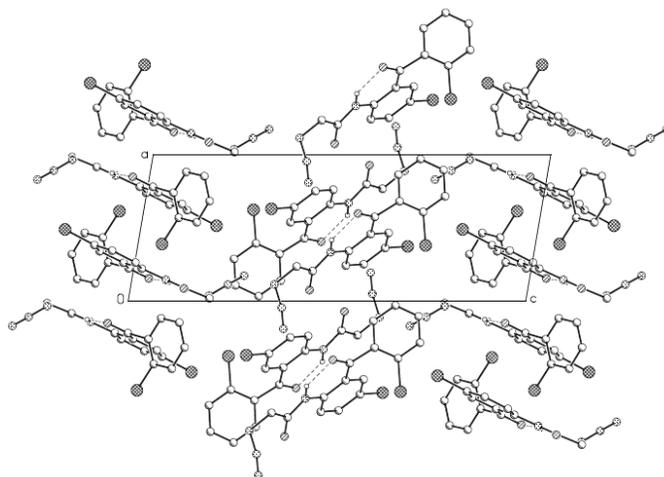


Figura 53. Empaque cristalino y unidad de celda del compuesto **78**

Además también se obtuvieron cristales del compuesto **82** en una disolución acetona-diclorometano, En la figura 54 se puede observar un solo arreglo molecular, en donde la orientación del grupo azida se encuentra contraria al grupo carbonilo, en este arreglo también se observa la formación de puentes de hidrógeno entre N(1)-H(1)...O(1), 1.93 (4) Å y N(1)-H(1)...N(3), 2.35 (4) Å. Las longitudes de los enlaces formados entre los anillos aromáticos y el grupo carbonilo C(1)-C(7) 1.493 (5) Å y C(7)-C(8) 1.488 (5), con un ángulo entre C(8)-C(7)-C(1) de 120.5 (3) grados, finalmente en la unidad de celda solo se observan la formación de puentes de hidrógeno intramoleculares.

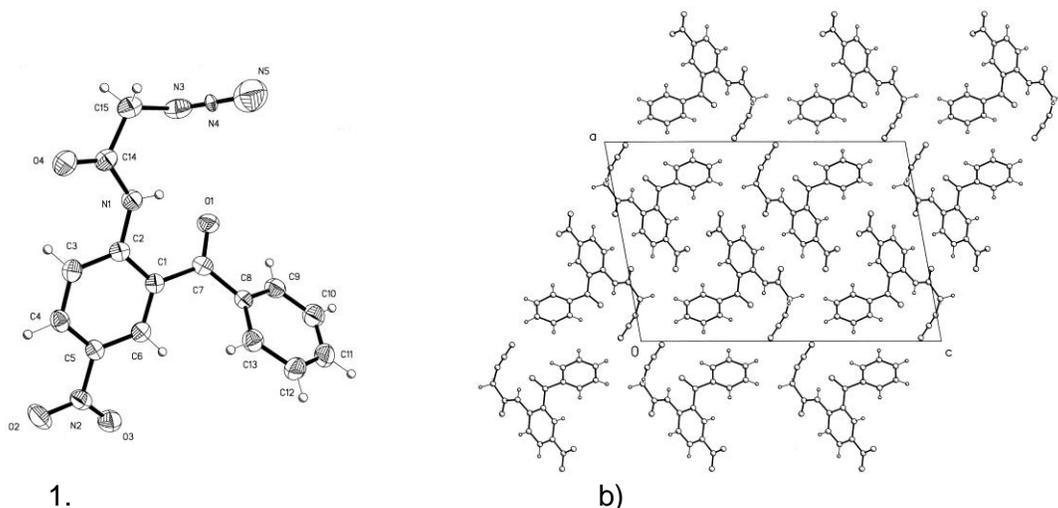
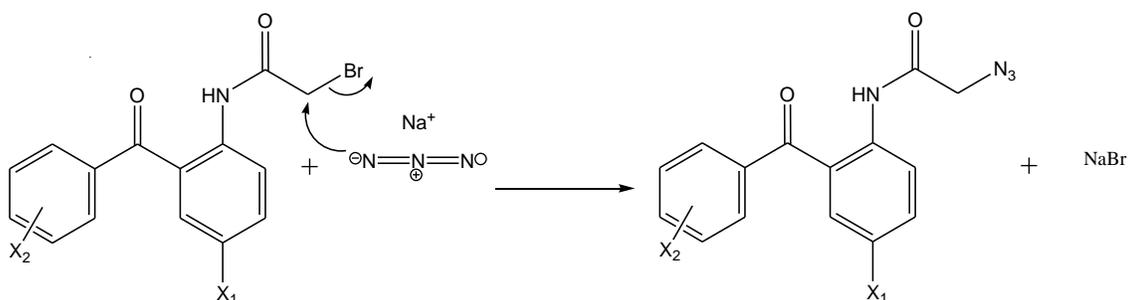


Figura 54. a) Arreglo molecular y b) Empaque cristalino y unidad de celda del compuesto **82**. Longitud de enlace (Å): C(1)-C(7) 1.493 (5); C(7)-C(8) 1.488 (5); N(2)-C(5) 1.463(5); N(1)-C(2) 1.405(4); N(3)-C(15) 1.531(6); N(3)-N(4) 0.967(4); N(4)-N(5) 1.149 (7). Angulo de enlace (°): C(8)-C(7)-C(1) 120.5 (3); C(6)-C(5)-N(2) 119.0 (4); N(1)-C(2)-C(1) 118.5 (3); C(14)-C(15)-N(3) 116.5 (3)

A continuación se describe brevemente el mecanismo de reacción para la formación de las azidoacetamidobenzofenonas.

Mecanismo de reacción

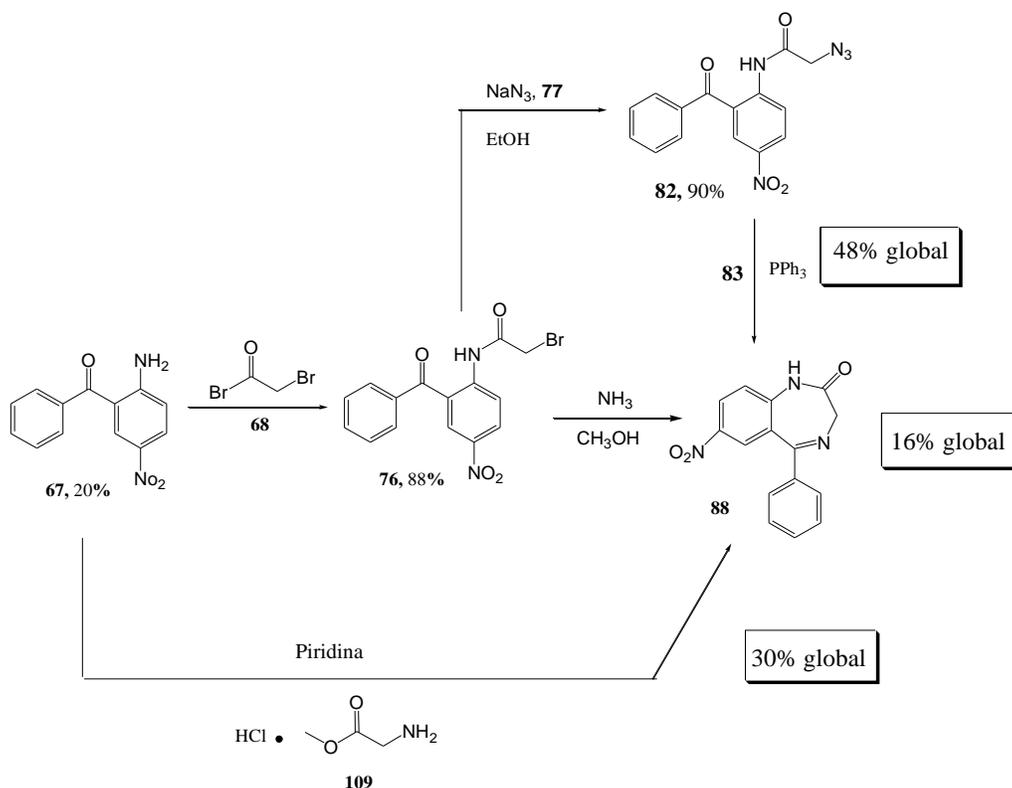
El mecanismo de reacción procede vía S_N2 en el que el ión azida realiza el ataque nucleofílico al halogenuro de alquilo secundario, generando la eliminación del ión bromuro el cual forma inmediatamente una sal con el contra catión de la azida, esquema 37.



Esquema 37. Mecanismo de reacción para la formación de los derivados 2-azidoacetamidobenzofenona

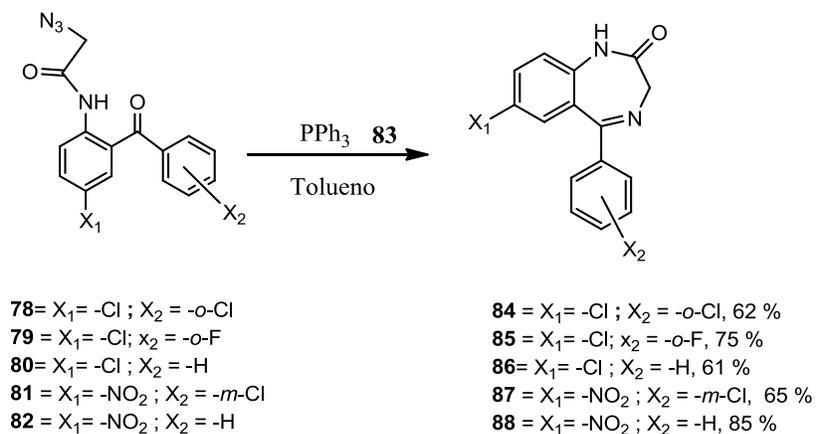
6.2.4 Obtención de 1,4-benzodiazepin-2-onas

De acuerdo al análisis retrosintético del esquema 31; el anillo 1,4-benzodiazepinico se puede obtener a partir de la ciclación directa entre un derivado de 2-aminobenzofenona y glicina. Esta prueba se realizó con el clorhidrato del éster de glicina **109** y el derivado de 2-aminobenzofenona **67** en piridina anhidra a reflujo por 72 h. llevando a cabo satisfactoriamente la formación del anillo 1,4-benzodiazepinico con un rendimiento del 30%, esquema 38. En el esquema 38 también se describe el cierre del anillo a partir del intermediario bromado **76** en una mezcla de $\text{NH}_3/\text{CH}_3\text{OH}$ 1:1 a temperatura ambiente por 72 h. con un rendimiento global del 16%, finalmente en el mismo esquema se muestra la ruta sintética empleada en el presente trabajo, que involucra la formación de dos intermediarios antes de la ciclación intramolecular tipo Wittig con trifenilfosfina en tolueno anhidro, dicha ruta sintética da un rendimiento global del 48%. Esta ruta de síntesis fue seleccionada por tener un rendimiento global superior al de las otras dos alternativas, aunado a una eficiencia mayor en la obtención del producto deseado y menor tiempo de reacción.



Esquema 38. Alternativas sintéticas para la obtención del anillo 1,4-benzodiazepínico

Por lo anterior es que los derivados 1,4-benzodiazepínicos se obtuvieron mediante la ciclización intramolecular tipo aza-Wittig a partir de los derivados de 2-azidoacetamidobenzofenonas y trifenil fosfina **83**, obteniendo satisfactoriamente cinco derivados 1,4-benzodiazepínicos **84-88** con rendimientos del 62 al 85 %, esquema 39.



Esquema 39

Del compuesto **84**, se lograron crecer cristales en una mezcla diclorometano-acetona de la calidad necesaria para realizar estudios de difracción de rayos-X. En la figura 55 se puede observar la conformación de bote del anillo 1,4-benzodiazepínico, Sin embargo en el empaque cristalino figura 56, se observan dos diferentes arreglos a) y b); en el primero se observa que existe la formación de puentes de hidrógeno intermolecular entre N(1)-H(1)...O(1), 2.002(11) Å; por otra parte en el arreglo b) no existe la formación de puentes de hidrógeno, sino la interacción Cl---Cl, pero únicamente con los cloros que se encuentran enlazados al anillo A. En el arreglo molecular cabe mencionar que la formación del heptaciclo, modifica el ángulo formado por los dos carbonos aromáticos y el carbono del carbonilo proveniente de los arreglos moleculares a y b del compuesto **78**, con ángulos de 119.7 y 120.1 respectivamente, al formar el enlace imina N(4)-C(5), el ángulo formado entre C(5A)-C(5)-C(1'), 117.4(2) en el compuesto **84** se ve disminuido dicho ángulo, también la longitud del enlace que se forma con el anillo C entre el C(5)-C(1'), 1.494(3) Å, se ve disminuido.

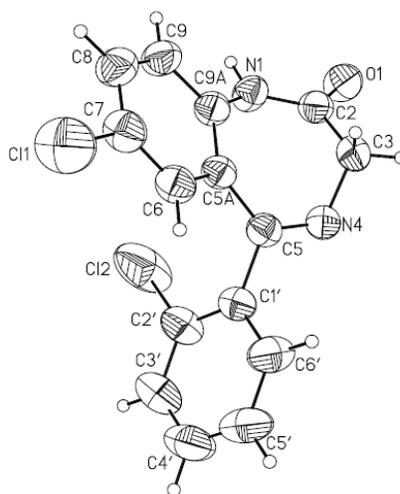


Figura 55. Arreglo molecular del compuesto **84**. Longitud de enlace (Å): C(5)-C(5A) 1.484(3); C(5)-C(1') 1.494(3); N(4)-C(5) 1.277(3); Cl(1)-C(7) 1.736(3); Cl(2)-C(2') 1.728(3); N(1)-C(9A) 1.408(3); N(1)-C(2) 1.350(3). Ángulos de enlace (°): C(5A)-C(5)-C(1') 117.4(2); N(4)-C(5)-C(5A) 126.3(2), C(1')-C(2')-Cl(2) 119.0(2), C(2)-N(1)-C(9A) 127.1(2).

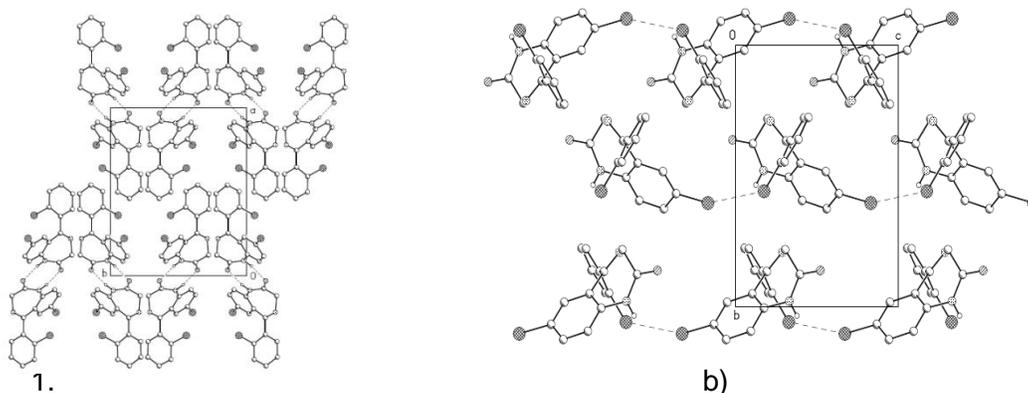
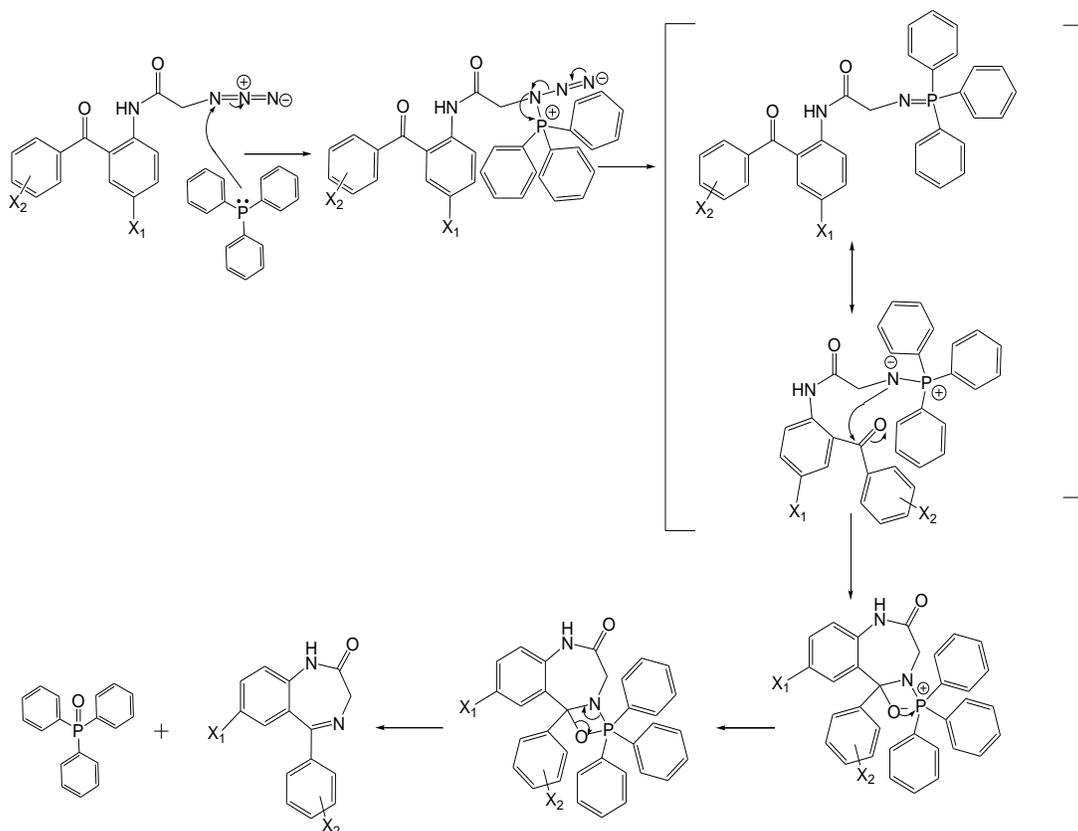


Figura 56. Empaque cristalino **a)** y **b)** del compuesto **84**, con su respectiva unidad de celda.

Mecanismo de reacción

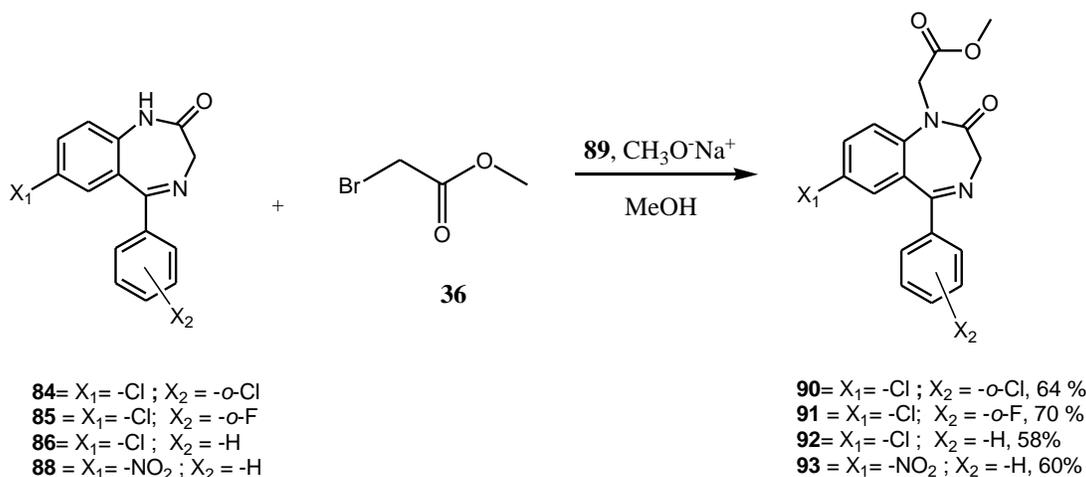
El mecanismo de reacción para la ciclación intramolecular se inicia con la unión de la trifenilfosfina al N1 de la azida que conlleva a la eliminación de $N_2\uparrow$ y la formación del iluro de fósforo, el cual puede realizar el ataque nucleofílico al carbono electrofílico del carbonilo y llevar a la formación de la doble ligadura C=N además de la eliminación del óxido de trifenilfosfina, esquema 40.



Esquema 40. Mecanismo de reacción de la ciclización intramolecular, para la obtención del anillo 1,4-benzodiazepínico

6.2.5 Obtención de metilacetato[1,4-benzodiazepin-2-onas]

Finalmente al N1 del anillo 1,4-benzodiazepinico se le realizó una reacción de *N*-alquilación con metil bromoacetato **36**, esto se logró al hacer reaccionar las benzodiazepinas con metóxido de sodio **89**, para abstraer el protón unido al N1 generando así un nucleófilo más fuerte que pudiese atacar al halogenuro de alquilo secundario y de esta forma obtener el producto deseado, esquema 41. Mediante esta metodología se obtuvieron los compuestos **90-93**, con rendimientos del 58 al 70%.



Esquema 41.

Del compuesto **92** se lograron crecer cristales en una disolución de metanol-benceno. En la figura 57a, se puede observar el arreglo molecular, en donde el anillo 1,4-benzodiazepinico conserva la conformación de bote, en donde los ángulos formados entre C(11)-C(5)-C(12) es de 118.83(17) (°); y N(4)-C(5)-C(11) es de 124.53(17) (Å) y el ángulo formado entre C(2)-N(1)-C(10) es de 123.91(16) grados. Con base en los datos de difracción de rayos-X del derivado de la 1,4-benzodiazepina **84**, estos ángulos se ven disminuidos, posiblemente por la presencia del metilacetato en posición axial en el N(1). En la figura 57b se muestra al empaque cristalino en donde se observa que las moléculas de benzodiazepina se encuentran de forma lineal con el anillo A orientado hacia arriba, sin ningún tipo de interacciones.

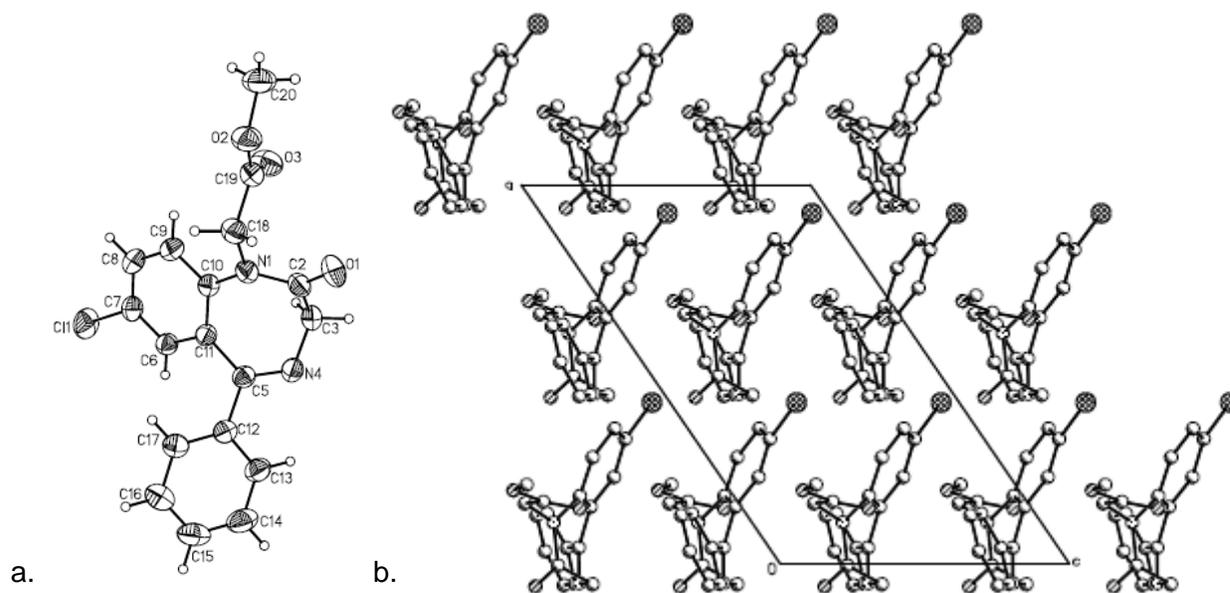


Figura 57. a. Arreglo molecular y. b. Empaque cristalino y unidad de celda del compuesto **97**. Longitud de enlace (Å): N(1)-C(18) 1.458(3); N(1)-C(2) 1.367(3); N(4)-C(5) 1.272(2); C(5)-C(11) 1.486(3); C(5)-C(12) 1.499(3); C(1)-C(7) 1.736(2) . Ángulos de enlace (°): C(11)-C(5)-C(12) 118.83(17); N(4)-C(5)-C(11) 124.53(17); C(2)-N(1)-C(10) 123.91(16); C(2)-N(1)-C(18) 115.44(17).

Con base en los resultados obtenidos mediante resonancia magnética nuclear de ^1H , ^{13}C , FTIR, UV-vis, espectrometría de masas, análisis elemental y los estudios de difracción de rayos-X se puede concluir que se realizó de forma satisfactoria la síntesis de los derivados 1,4-benzodiazepínicos a partir de los derivados de 2-aminobenzofenonas, mediante una metodología eficiente que genera buenos rendimientos de los productos deseados.

Una vez obtenidos los resorcinaren-dendrimeros de primera y segunda generación así como los derivados de las 1,4-benzodiazepinas se procedió a realizar el acoplamiento para la obtención de los conjugados.

doblete que corresponde al metileno unido al N1 del anillo 1,4-benzodiazepínico, con una constante de acoplamiento de $J = 4.8$ Hz, en la región aromática se encuentran las señales de 6.25 y 6.84 ppm que corresponden a los protones aromáticos del macrociclo y finalmente de la región de 7.14 a 7.72 ppm las señales asignadas a los protones aromáticos de la benzodiazepina.

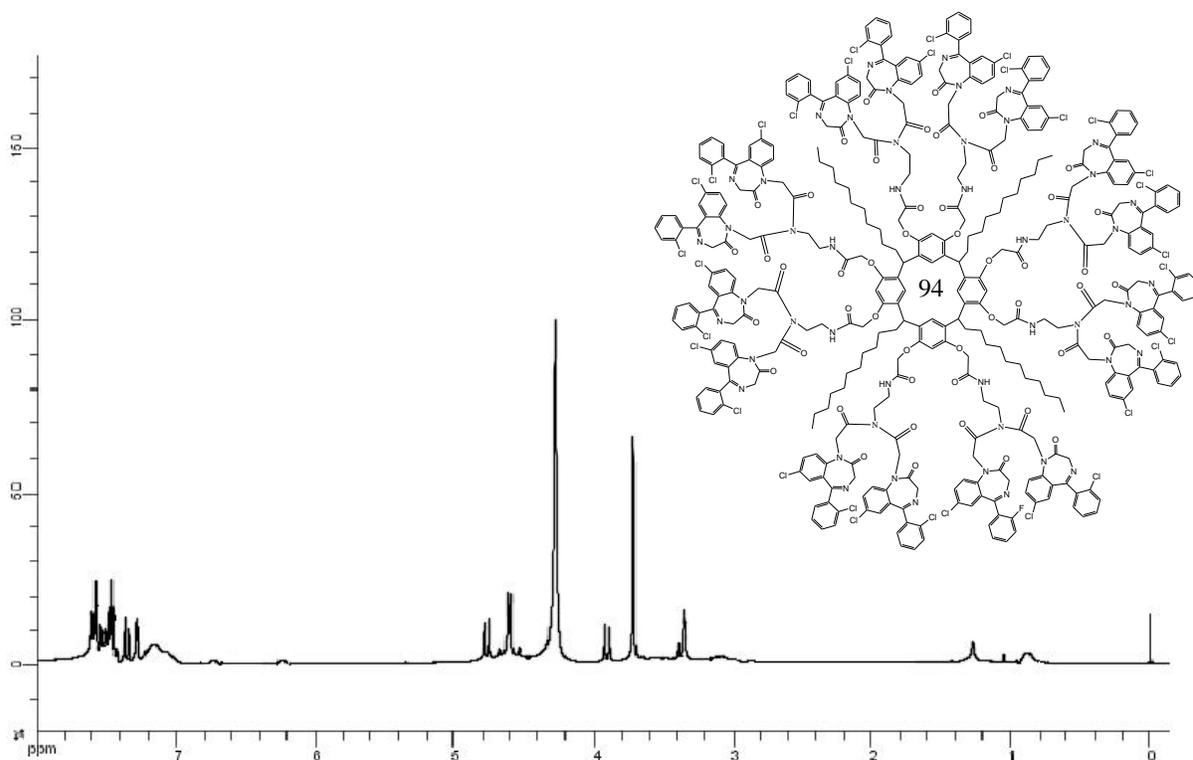


Figura 58. Espectro de RMN ^1H , del compuesto **94**.

La obtención del compuesto **94** fue confirmado por espectrometría de masas, mediante ionización por MALDI-TOF, en el espectro se observa el pico con 7411.25 m/z que corresponde al ión molecular, figura 59.

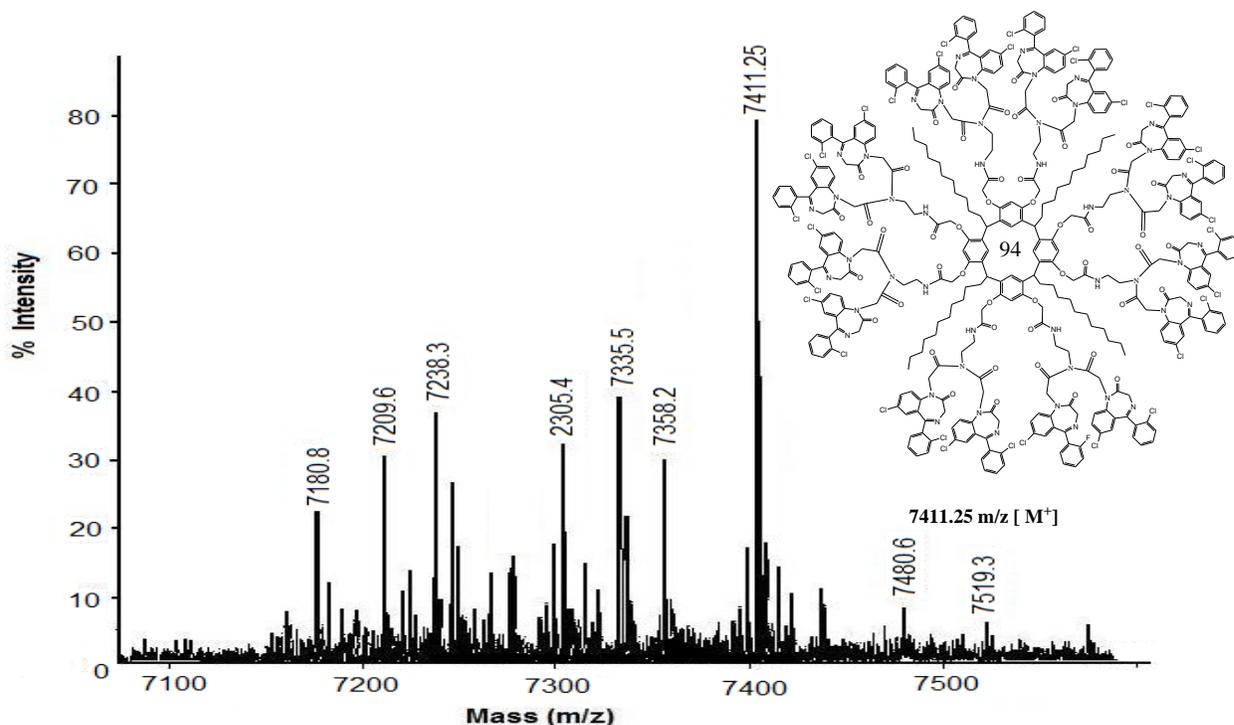
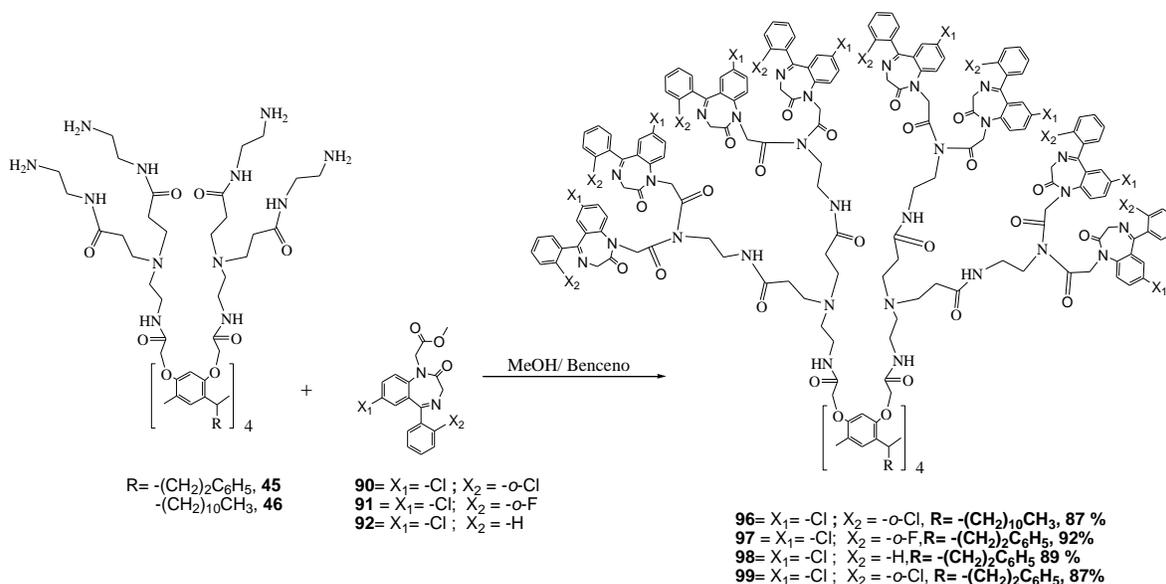


Figura 59. Espectro de masas-MALDI-TOF del compuesto 94

6.3.2 Conjugados de resorcinaren-dendrimeros G 2.0 con metilacetato [1,4-benzodiazepin-2-onas]

Para la obtención de los conjugados con dendrímeros de segunda generación, se siguió la metodología empleada para los dendrímeros de primera generación, esquema 43. En esta ocasión se realizó la formación de conjugados con los dos diferentes tipos de dendrímeros de segunda generación **55** y **56**; y el uso de tres diferentes derivados 1,4-benzodiazepínicos **90-92**. Mediante dicha metodología se obtuvieron cuatro conjugados **96-99**, con rendimientos del 87 al 92 %.



Esquema 43

De forma representativa en la figura 60 se muestra el espectro de RMN del compuesto **97**, conjugado formado con el resorcinaren-dendrímico **45** con el derivado benzodiazepínico **91**. En el espectro se puede observar a campo alto las señales a 2.30 y 2.72 ppm que corresponden a las señales asignadas a los metilenos de las cadenas alifáticas unidas a los metinos puentes del macrociclo, de la región de 2.8 a 3.32 ppm se encuentran asignadas las señales de los metilenos de los brazos dendríticos unidos principalmente a NH o N, mientras que a 4.56 ppm se encuentra la señal asignada a los metilenos unidos a oxígeno; a 3.92 y a 4.82 ppm se observan dos dobletes con constantes de acoplamiento de $J = 10.8$ Hz que corresponden al metileno del anillo 1,4-benzodiazepínico, a 4.62 ppm se encuentra la señal asignada al metileno unido al N1 del anillo 1,4-benzodiazepínico, en la región aromática se encuentran las señales asignadas a los protones aromáticos del anillo macrocíclico en 6.43 y 7.11 ppm y finalmente de la región de 7.12 a 7.64 ppm se encuentran las señales asignadas a los protones aromáticos del anillo 1,4-benzodiazepínico y del anillo bencénico unido al metino puente.

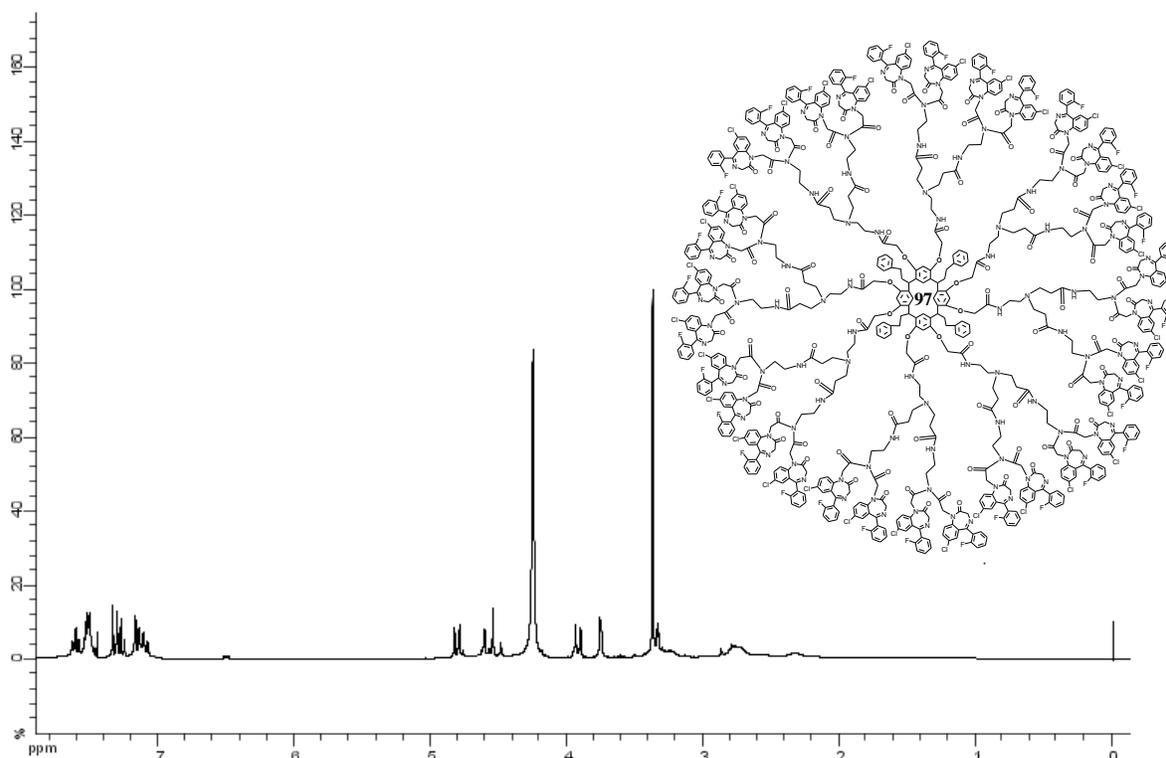


Figura 60. Espectro de RMN 1 del compuesto **97**, conjugado formado con el resorcinaren-dedrímero **45** y la 1,4-benzodiazepina **91**.

En la figura 61 se muestra el espectro de RMN ^{13}C del compuesto **97**, a campo alto se observan las señales a 29.4 y a 31.5 ppm que corresponden a los metilenos de la cadena alifática unida al metino puente del macrociclo, a 40.6 a 67.2 ppm se encuentran las señales asignadas a los metilenos del brazo dendrítico; así como las que corresponden al metileno del anillo 1,4-benzodiazepínico y del metileno unido al N1 del anillo 1,4 benzodiazepínico, siendo el metileno unido al oxígeno el más desplazado a campo bajo. En La región de 116.2 a 157.9 ppm se encuentran las señales asignadas a los protones aromáticos del anillo benzodiazepínico, del macrociclo y del anillo bencénico unido al metino puente, por mencionar algunas señales se encuentran a 123.1 y a 130.9 ppm las señales de los aromáticos benzodiazepínicos 9 y 8, a 128.3, 128.5, y a 130.4 ppm se encuentran las señales que corresponden al anillo bencénico unido al metino puente; en campo bajo se encuentra a 166.9 ppm la señal que corresponde al C=N del anillo 1,4 benzodiazepínico, a 166.9 y a 169.0 ppm las señales asignadas a los carbonilos benzodiazepínicos, y finalmente a 169.2 ppm, la señal asignada a los carbonilos del brazo dendrítico.

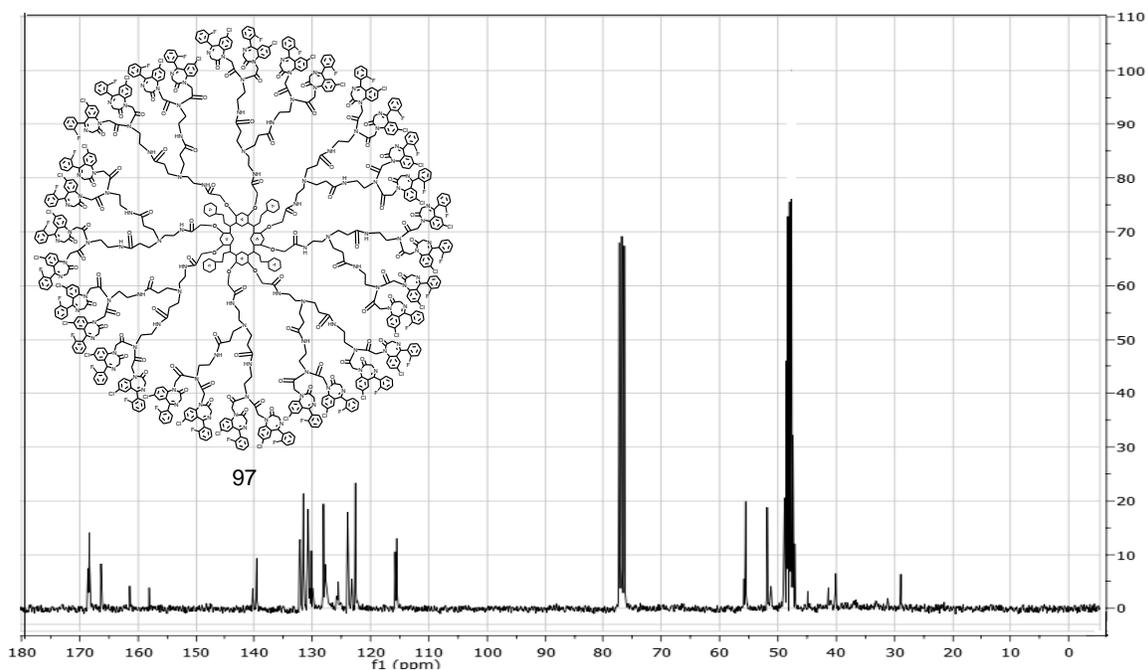


Figura 61. Espectro de RMN ^{13}C del compuesto **97**

Con base en los resultados obtenidos de resonancia magnética nuclear de ^1H , ^{13}C , FTIR, UV-vis, espectrometría de masas y análisis elemental de los compuestos sintetizados en este apartado, se concluye que de forma satisfactoria se logró la síntesis de los conjugados con resorcinaren-dendrimeros G 1.0 y G2.0 con 16 y 32 moléculas de 1,4-benzodiazepinas en la periferia respectivamente con buenos rendimientos globales.



CAPÍTULO 7

**PRUEBAS DE
ACTIVIDAD BIOLÓGICA**

En años recientes las benzodiazepinas han encontrado aplicación no solo en el tratamiento de enfermedades relacionadas con el sistema nervioso central, debido a las modificaciones estructurales que se les han realizado, se han aplicado al tratamiento de otras enfermedades como el lupus eritomaso sistémico, como agentes anti-VIH, agentes anti-hepatitis, e inclusive en ensayos para el tratamiento de cáncer. El uso de las benzodiazepinas como agentes anti-cancerígenos resultó de gran interés, por lo que en el presente trabajo se evaluó la actividad anti-cancerígena de cuatro derivados 1,4 benzodiazepínicos, así como la de los resorcinaren-dendrímeros y finalmente la de los conjugados dendrímero-1,4-benzodiazepina.

7.1 Ensayos de citotoxicidad, Sulforodamina B (SRB)

El ensayo o test de la sulforodamina B (SRB) fue desarrollado en 1990, y es uno de los métodos ampliamente usados en la determinación y selección de compuestos con altos niveles de citotoxicidad *in vitro*¹⁷⁷. El ensayo se basa en la habilidad de unión de la SRB a componentes proteínicos de la célula que han sido fijados a las placas de cultivo tisular por ácido tricloroacético. La SRB es un colorante rosa brillante, el cual es un aminoxantano con dos grupos sulfónicos que se unen a residuos de aminoácidos con carácter básico en condiciones ligeramente ácidas, y que se disocian bajo condiciones básicas. Como la unión de SRB es estequiométrica a la cantidad de colorante extraído de las células teñidas, es directamente proporcional a la masa celular. Este ensayo ha sido ampliamente usado en pruebas de toxicidad de fármacos con líneas celulares cancerosas y no cancerosas¹⁷⁸. En el presente trabajo se realizó el estudio *in vitro* con seis líneas celulares de cáncer humano. K-562 (Leucemia mieloide crónica humana), SKLU-1 (Adenocarcinoma pulmonar humano), HCT-15 (Adenocarcinoma colorectal humano), PC-3 (Cáncer de próstata humano), MCF-7 (Cáncer de mama), U251 (Glía de sistema nervioso central, SNC).

¹⁷⁷ a) P. Skehan, *J. Natl. Cancer Inst.* **1990**, 82, 1107; b) V. Vichai, K. Kirtikara, *Nature protocols*, 2006, 1, 1112.

¹⁷⁸ A. Monks, *J. Natl. Cancer Inst.* **1991**, 83, 757.

7.1.1. Metodología para el ensayo de sulforodamina (SRB)

De un cultivo celular las células fueron tomadas y diluídas en medio fresco. Formando una suspensión en 100 μL que contienen entre 5000 y 10 000 células por pozo, los cuales fueron colocados en los 96 pozos de las microplacas (Costar). El material fue incubado a 37° C por 24 h. en atmósfera de CO_2 al 5%. Subsecuentemente 100 μL de una solución de los compuestos a probar, obtenidos por diluciones Stock fueron adicionados en cada pozo. Los cultivos celulares fueron expuestos por 48 h. a los compuestos, en un intervalo de concentraciones de 10-100 μM .

Después del período de incubación las células fueron fijadas a un sustrato plástico, mediante la adición de 50 μL de ácido tricloroacético frío. Las placas fueron incubadas a 4°C por una hora, lavadas con agua, y secadas al aire. Las células fijadas con ácido trifluoroacético fueron teñidas por adición de SRB al 0.4 %. El exceso de SRB fue removido con lavados de una solución acuosa de ácido acético al 5 %. Las placas fueron secadas al aire, y el colorante fijado fue solubilizado por adición de Tris base (100 μL) 10 Mm. Las placas fueron colocadas en agitación durante 5 minutos y la absorción fue determinada a 515 nm, usando el lector para placas de ELISA (Bio-Tex Instruments).

7.1.2 Ensayo de citotoxicidad (SRB), en derivados de 2-aminobenzofenona

Los derivados de 2-aminobenzofenona **57-67** que se muestran en la figura 62, fueron probados en un estudio preliminar de citotoxicidad en macrófagos a una concentración de 50 μM a manera de selección (screening) para poder realizar las pruebas de actividad anti-cancérgena y comprobar el grado de toxicidad en células normales. En dicho estudio los compuestos **57**, **58**, **63** y **67** resultaron con una actividad citotóxica menor del 20 % e inclusive nula, con base en los resultados obtenidos se considero realizar el ensayo de actividad anti-cancerigenas a estos cuatro compuestos. Inicialmente se les realizó el ensayo sulforodamina SRB en seis líneas celulares cancerígenas a una dosis de 50 μM , para determinar si las líneas celulares eran susceptibles al tratamiento con los compuestos, los resultados obtenidos se muestran en la tabla 2.

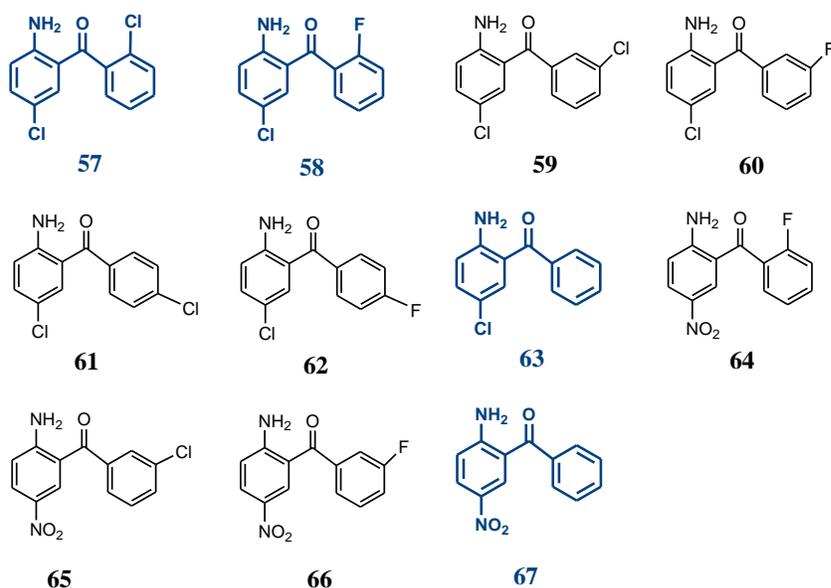


Figura 61. Estructuras químicas de los derivados de 2-aminobenzofenonas **57-67**

Tabla 2. Inhibición de crecimiento (%) en seis líneas celulares tumorales de los compuestos **57**, **58**, **63** y **67** a una concentración 50 μ M en DMSO.

Línea Celular/ Inhibición de crecimiento (%)						
Compuesto	U-251	PC-3	K-562	HCT-15	MCF-7	SKLU-1
57	62.04	58.6	89.92	95.43	67.84	81.47
58	52.85	40.72	98.36	75.89	78.36	76.86
63	16.06	21.77	49.37	66.56	73.04	25.64
67	21.5	32.75	55.32	23.61	-----	-----

U-251 (Glía de sistema nervioso central, SNC), PC-3 (Cáncer de próstata humano), K-562 (Leucemia mieloide crónica humana), HCT-15 (Adenocarcinoma colorectal humano), MCF-7 (Cáncer de mama), SKLU-1 (Adenocarcinoma pulmonar humano).

De acuerdo a la tabla 2, el compuesto **57** que se encuentra sustituido por cloro en las posiciones 2', 5 en la 2-aminobenzofenona, resultó ser el más activo en cuatro de las seis líneas celulares (U-251, PC-3, HCT-15, SKLU-1), particularmente con la línea celular de adenocarcinoma colorectal (HCT-15), inhibiendo el crecimiento celular en un 95.43%,

mientras que en la línea celular de leucemia mieloide crónica (K-562) a pesar de no ser el más activo sí presenta un porcentaje de inhibición de crecimiento considerable del 89.92%, en general este compuesto resulta prometedor para el tratamiento de células cancerígenas, aunque no de forma selectiva para un determinado tipo de línea celular. Al comparar los resultados del compuesto **57** con los del compuesto **63** el cual no se encuentra sustituido en el anillo B de la 2-aminobenzofenona, existe una diferencia significativa en los porcentajes de inhibición de crecimiento, lo cual probablemente se deba a la presencia del átomo de cloro en el anillo B, el cual aumenta la actividad biológica, con excepción de los resultados obtenidos en la línea celular de cáncer de mama (MCF-7).

El compuesto **58** que se encuentra sustituido por fluor en la posición 2' del anillo B, resultó ser activo en la línea celular de leucemia mieloide crónica (K-562) con un porcentaje de inhibición del crecimiento del 98.36 %, mostrando selectividad hacia esta línea celular, además de que en las líneas celulares de cáncer de mama (MCF-7), adenocarcinoma pulmonar (SKLU-1) y en adenocarcinoma colorectal (HCT-15) presenta actividad en un intervalo del 75-78 %, al igual que con el compuesto **57** existe una marcada diferencia en la actividad biológica con respecto al compuesto **63**, lo que sugiere que la presencia de un sustituyente electroattractor en posición *-orto* incrementa el porcentaje de inhibición de crecimiento en las líneas celulares que se sometieron al ensayo.

Finalmente los compuestos **63** y **67** que se encuentran sin sustituir en el anillo B, son los que muestran una menor actividad, e inclusive el compuesto **67** muestra actividad nula en dos líneas celulares, estos resultados indican que la presencia del cloro en la posición 5 del anillo A, es necesaria para la actividad anticancerígena.

Con base en los resultados obtenidos de las pruebas preliminares de actividad biológica, se decidió a realizar los estudios a la concentración inhibitoria 50 (CI_{50} , μM) de los compuestos **57**, **58** y **63** disueltos en DMSO, en tres de las líneas celulares K-562, HCT-15 y SKLU-1 que resultaron en general más susceptibles a dichos compuestos, usando como fármaco de referencia al cis-platino, los resultados se muestran en la tabla 3.

Tabla 3. Concentración inhibitoria 50 (CI_{50} , μM), de los compuestos **62**, **63** y **68** en DMSO.

Línea Celular/ CI_{50} (μM)			
Compuesto	K-562	HCT-15	SKLU-1
57	25.48 \pm 2.3	18.87 \pm 0.75	15.59 \pm 0.24
58	40.86 \pm 1.6	32.62 \pm 1.9	32.64 \pm 1.0
63	58.54 \pm 4.6	45.43 \pm 2.5	59.71 \pm 2.3
Cis-platino	15.20 \pm 1.4	13.83 \pm 0.7	7.13 \pm 0.2

K-562 (Leucemia mieloide crónica humana), HCT-15 (Adenocarcinoma colorectal humano), SKLU-1 (Adenocarcinoma pulmonar humano).

De acuerdo a los resultados de la tabla 3, el compuesto **57** presenta una CI_{50} cercana al del cis-platino en las tres líneas celulares. Por otra parte el compuesto **63** es el que presenta una menor actividad biológica.

7.1.3 Ensayo de citotoxicidad (SRB) en las 1,4-benzodiazepinas

A los compuestos 1,4-benzodiazepínicos **84-88** (figura 62) que se obtuvieron a partir de los derivados de 2-aminobenzofenona **57**, **58**, **63** y **67** se les realizó el ensayo preliminar de citotoxicidad (SRB) bajo las condiciones descritas en el apartado 7.1.1, en cinco líneas celulares de cáncer humano, con la finalidad de observar si la formación del anillo benzodiazepínico modificaba la actividad biológica, los resultados de esta prueba se muestran en la tabla 4.

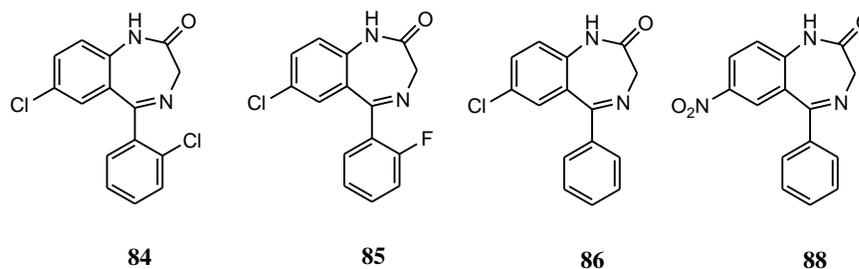


Figura 62. Estructura química de los compuestos 1,4-benzodiazepínicos **84**, **85**, **86** y **88**

De acuerdo a los resultados de la tabla 4, la formación del anillo 1,4-benzodiazepínico afecta notablemente la actividad biológica en los derivados que tienen como sustituyente el cloro en la posición 7 del anillo benzodiazepínico, disminuyendo los porcentajes de inhibición de crecimiento en todas las líneas celulares, como es el caso del compuesto **84** el cual disminuye del 95.43 al 15.9 % con respecto a su precursor (compuesto **57**), en la línea celular de adenocarcinoma colorectal (HCT-15). Esta disminución se puede deber al impedimento estérico del anillo 1,4-benzodiazepínico o bien que se requiera la amina primaria libre para el mecanismo de acción.

Por otra parte el compuesto **88** cuyo precursor presentaba la menor actividad biológica (compuesto **67**), debido tal vez a la presencia del grupo nitro en posición 7 del anillo benzodiazepínico, aumentó notablemente el porcentaje de inhibición del crecimiento del 32.72 al 57.3 %, en la línea celular de cáncer de próstata (PC-3), creando inclusive una ligera afinidad hacia esta línea celular, ya que el precursor mostraba mayor actividad biológica en la línea celular de leucemia de mieloides crónicas (HCT-15).

Tabla 4. Ensayo de citotoxicidad en cinco líneas celulares de cáncer humano, de los derivados 1,4-benzodiazepínicos **84**, **85**, **86**, y **88**.

Línea celular/ Inhibición de crecimiento (%)					
Compuesto	PC-3	K-562	HCT-15	MCF-7	SKLU-1
84	25.1	32.8	15.9	22.9	31.8
85	23.0	2.4	17.0	16.0	64.5
86	13.4	16.0	19.7	12.0	19.2
88	57.3	22.3	20.6	35.2	40.2

PC-3 (Cáncer de próstata humano), K-562 (Leucemia mieloides crónicas humana), HCT-15 (Adenocarcinoma colorectal humano), MCF-7 (Cáncer de mama), SKLU-1 (Adenocarcinoma pulmonar humano).

Una vez que se determinaron las líneas celulares en las cuales las benzodiazepinas mostraron una mayor actividad anticancerígena se procedió a determinar la concentración inhibitoria 50 (CI_{50} , μM) de los compuestos **84**, **85**, **86** y **88** disueltos en DMSO, en tres de las líneas celulares que en general resultaron ser más susceptibles, K-562, HCT-15 y

SKLU-1, usando como fármaco de referencia al cis-platino, los resultados se muestran en la tabla 5. En dicha tabla se puede observar que todos los valores de CI_{50} se encuentran por debajo de los 60 μM . Sin embargo, al comparar los resultados de los derivados 1,4-benzodiazepínicos con el cis-platino, sólo el compuesto **84** tiene CI_{50} (25.48 ± 2.3 , 18.87 ± 0.75 y $15.59 \pm 0.24 \mu M$) cercanas al fármaco de referencia. En general el compuesto **84** resultó ser el más potente de los compuestos 1,4-benzodiazepínicos estudiados, exhibiendo la CI_{50} más baja y cercana al fármaco de referencia. Finalmente al comparar los resultados de los compuestos **84** y **85** ambos con un átomo electronegativo en el anillo C de la benzodiazepina, cloro y fluor respectivamente, la presencia del cloro en el anillo C de la benzodiazepina da mejores resultados en la inhibición de crecimiento celular en células cancerígenas humanas.

Tabla 5. Concentración inhibitoria 50 (CI_{50} , μM), de los compuestos **62**, **63** y **68** en DMSO.

Línea celular/ CI_{50} (μM)			
Compuesto	K-562	HCT-15	SKLU-1
84	25.48 ± 2.3	18.87 ± 0.75	15.59 ± 0.24
85	30.86 ± 1.6	23.62 ± 1.9	22.64 ± 1.0
86	58.54 ± 4.6	45.43 ± 2.5	59.71 ± 2.3
88	40.86 ± 1.6	33.62 ± 1.9	32.64 ± 1.0
Cis-platino	15.20 ± 1.4	13.83 ± 0.7	7.13 ± 0.2

K-562 (Leucemia mieloide crónica humana), HCT-15 (Adenocarcinoma colorectal humano), SKLU-1 (Adenocarcinoma pulmonar humano).

Como es conocido el proceso inflamatorio es un indicativo de problemas celulares, el cual al convertirse en crónico puede dar origen a cáncer celular, es por esta razón que en muchos estudios de actividad anti-cancerígena, se sugiere que se realicen pruebas de actividad anti-inflamatoria como estudios complementarios, tal como se describe en el siguiente apartado.

7.1.4 Actividad anti-inflamatoria de 1,4-benzodiazepinas

Se evaluó la actividad antiinflamatoria tópica de los derivados benzodiazepínicos **84**, **85**, **86** y **88** (Figura 62), utilizando el test del edema de oreja de ratón inducido por 12-o-tetradecanoilforbol-13 acetato (TPA), descrito por Carlson y colaboradores¹⁷⁹ y como complemento la medición de la enzima mieloperoxidasa (MPO) realizado por De Young y colaboradores¹⁸⁰ como un marcador de la infiltración de polimorfonucleares (PMN) en el tejido inflamado.

El TPA induce la respuesta inflamatoria mediante la activación de la proteinquinasa C y la consecuente estimulación de la fosfolipasa A2, hidrólisis del ácido araquidónico y biosíntesis de prostaglandinas y leucotrienos. El edema de oreja inducido por TPA es un modelo de inflamación local o tópica que permite evaluar sustancias con actividad antiinflamatoria y también agentes antipsoriasis. Por otra parte la acumulación de neutrófilos es una característica de enfermedades inflamatorias tales como infecciones piogénicas y dermatitis; por lo que la MPO ha sido usada para proveer una medida cuantitativa de la infiltración de neutrófilos en el tejido, en estos ensayos se uso como fármaco de referencia a la indometacina, antiinflamatorio no esteroideo de uso comercial.

Para la prueba se utilizaron ratones Swiss machos con un peso entre 25-30g. Los animales fueron mantenidos en ambiente climatizado de 22 ± 1 °C y se mantuvieron en ciclos de 12 h de luz y oscuridad. Los animales fueron asignados al azar a cada grupo (n= 5). Todos los experimentos fueron seguidos de acuerdo a las normas éticas para el uso y cuidado de animales¹⁸¹.

Edema auricular inducido por TPA

La oreja derecha de cada ratón recibió una aplicación tópica de 2.5 µg de 12-O-tetradecanoilforbol-13 acetato (TPA) a una concentración de 0.125 µg/µl en acetona, aplicándose 10 µl en cada lado de la oreja^{182,183}. Los compuestos a probar fueron disueltos

¹⁷⁹ a) R. P. Carlson, L. O' Neill-Davis, J. Chang, A. J. Lewis; *Agents and Actions*, **1985**, 17, 197; b) J. M. Young, B. M. Wagner, D.A. Spires, *J. Invest. Dermatol.* **1983**, 81, 48.

¹⁸⁰ L. M. De Young, J. B. Kheifets, S. J. Ballaron, J. M. Young; *Agents and Actions*, **1989**, 26, 335.

¹⁸¹ E. D. Olfert, B. M. Cross, A. A Mc William. *Canadian Council of animal care guide to the care and use of experimental animals*, vol 1, **1993**, 2nd ed.

¹⁸² R. P Carlson, W, L. O'Neill-Davis, L Calhoun, D. J. Musser, A. Kreft , J. Chang, *Agents Actions*, **1989**, 26, 319.

en acetona, se aplicaron en forma tópica en una dosis de 1 mg/oreja inmediatamente después de la aplicación de TPA. La oreja izquierda, utilizada como control, recibió el vehículo. La indometacina (0.5 mg/oreja) se utilizó como droga de referencia. Después de 4 h los animales se sacrificaron con una cámara de bióxido de carbono. Posteriormente se extrajeron de cada oreja discos con un diámetro de 7 mm para determinar su peso. La diferencia de peso entre las orejas derecha e izquierda se tomó como expresión del edema. Se calculó el porcentaje de inhibición del edema en los animales tratados con respecto al grupo control.

Ensayo de mieloperoxidasa (MPO)

A 6 mm de tejido de oreja de ratón se les colocaron en 0.75 mL de buffer de fosfato de sodio 80 mM (pH 5.4) que contiene 0.5 % de bromuro hexadeciltrimetilamonio (BHTA). La muestra fue enseguida congelada en hielo seco y almacenada a -20°C antes del ensayo. Para el ensayo la mezcla fue descongelada a temperatura ambiente y homogenizada por 45 segundos a 0° C en un agitador mecánico. El homogenado fue decantado en un microtubo de centrifuga. Después se le adicionó una segunda alícuota de 0.75 mL de BHTA en amortiguador de fosfatos. La mezcla fue centrifugada a 12 000 x g a 4 °C por 15 min. Para el ensayo, al sobrenadante se le adicionó una mezcla que contiene 100 µL de amortiguador de fosfato salino, 85 µL de fosfato de sodio 0.22 M y 15 mL de H₂O₂ al 0.017 % en un microplato de 96 pozos. La reacción se inició con la adición de 20 µL de clorhidrato de tetrametilbencidina a 18.4 µM en 8% de dimetilformamida acuosa (DMF). La mezcla fue incubada por tres minutos a 37° C y enseguida colocada en hielo. La reacción fue parada con 30 µL de acetato de sodio 1.46 M (pH 3.0). La actividad enzimática fue determinada colorimétricamente usando un lector de placa Dynatech, para medir la absorbancia a 630 nm. La actividad es expresada como unidades de OD/min/ mL de sobrenadante de enzima, tabla 6.

¹⁸³ D. L. M. Young, J. B. Kheifets, S. J. Ballaron, J. M Young, Agents Actions, **1989**, 26, 335.

Tabla 6. Actividad antiinflamatoria de los compuestos **84**, **85**, **86** y **88**. Mediante la medición del edema de oreja en ratón inducido por 12-o-tetradecanoilforbol-13 acetato (TPA) y medición de la enzima mieloperoxidasa (MPO).

Compuesto	TPA			MPO	
	Dosis (mol/oreja)	Peso de la oreja (mg)	Inhibición del edema(%)	D.O. _{450 nm} / biopsia	Inhibición de MPO(%)
Control(TPA)	----	12.9±1.0	----	0.292±0.096	---
84	1	3.8±0.8**	70.5	0.111±0.010**	61.9
85	1	2.7±1.3**	79.0	0.111±0.041**	61.9
86	1	2.9±0.5**	77.5	0.069±0.012**	76.5
88	1	2.8±0.5**	78.3	0.093±0.023**	68.2
Indometacina	1	2.0±0.7**	84.5	0.054±0.026**	81.5

** p≤0.01; Cada valor está representado con su ±S.E.M para cinco animales

De acuerdo a los resultados de la tabla 6, los cuatro compuestos a prueba tienen un porcentaje de inhibición del edema entre el 70-79 % siendo el compuesto **85** sustituido por *o*-fluoro en el segundo anillo el que presenta mayor inhibición del edema, 79%. Sin embargo, este valor se encuentra por debajo de la indometacina, o fármaco de referencia. Al parecer la presencia del sustituyente en *orto* modifica la actividad antiinflamatoria de acuerdo a la electronegatividad y tamaño del sustituyente, ya que el compuesto más activo se encuentra sustituido por el fluoro, altamente electronegativo pero de volumen pequeño. En el caso de la actividad enzimática de la MPO, la mayor actividad la presentó el compuesto **86** que se encuentra libre se sustituyentes en el anillo C de la 1,4-benzodiazepina, con 76 % de inhibición, este valor está por debajo de la indometacina que presenta un porcentaje de inhibición del 81.5 %, al parecer la inhibición de la MPO se ve afectada por la presencia de un sustituyente electronegativo en la posición *orto* del anillo C de las 1,4-benzodiazepinas sometidas a la prueba, ya que estos presentan los valores más bajos.

Una vez determinada la actividad anti-cancerígena y anti-inflamatoria de las 1,4-benzodiazepinas se procedió a realizar las pruebas de actividad anti-cancerígena de las metilacetato[1,4-benzodiazepin-2-onas] de las benzodiazepinas obtenidas a partir de estas benzodiazepinas con el objetivo de determinar si aumentaba o disminuía su actividad.

7.1.5 Ensayo de citotoxicidad (SRB) en metilacetato[1,4-benzodiazepin-2-onas]

Tal como se describió en la sección 5.2.5 se realizó una N-alquilación a los derivados 1,4 benzodiazepinicos **84**, **85**, **86** y **88** con la finalidad de poder unirlos a la periferia de los resorcinarendrimeros G1.0 y G 2.0 sin ningún impedimento estérico. Debido a esta modificación química, se decidió realizar el ensayo preliminar de citotoxicidad (SRB) a los compuestos **90-93** (figura 63), para determinar si la modificación en su estructura química, modificaba la actividad biológica. El ensayo se determinó en seis líneas celulares de cáncer humano, de acuerdo a la metodología descrita en la sección 7.1.1. Los resultados de esta prueba se muestran en la tabla 7.

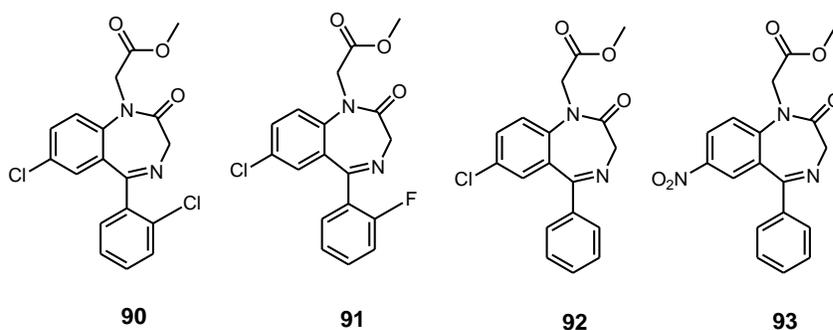


Figura 63. Estructura química de los compuestos 1,4-benzodiazepinicos alquilados en N1, **90-93**

Tabla 7. Ensayo de citotoxicidad en seis líneas celulares de cáncer humano, de los derivados 1,4-benzodiazepínicos **90-93**.

Línea celular/ Inhibición de crecimiento (%)						
Compuesto	U-251	PC-3	K-562	HCT-15	MCF-7	SKLU-1
90	18.6	12.83	15.92	12.9	11.8	12.50
91	20.72	22.41	27.23	26.0	24.5	19.8
92	11.72	12.30	19.71	12.0	19.29	13.23
93	33.72	22.33	30.62	25.2	22.2	27.5

U-251 (Glía de sistema nervioso central, SNC), PC-3 (Cáncer de próstata humano), K-562 (Leucemia mieloide crónica humana), HCT-15 (Adenocarcinoma colorectal humano), MCF-7 (Cáncer de mama), SKLU-1 (Adenocarcinoma pulmonar humano).

De acuerdo a los resultados mostrados en las tablas 4 y 7, la N-alquilación en los compuestos **90**, **92** y **93** disminuyó considerablemente el porcentaje de inhibición de crecimiento en las seis líneas celulares con respecto a sus precursores, como en el caso del compuesto **93** que disminuyó del 57.3 al 22.3 % con respecto a su precursor el compuesto **88** en la línea celular de cáncer de próstata (PC-3), la disminución de la actividad biológica se puede atribuir al hecho de que se requiera una amina primaria libre, en el sitio de unión del compuesto, ya que la actividad biológica disminuyó en el siguiente orden $\text{NH}_2 > \text{NH} > \text{N}$. Esta hipótesis podría ser probada en investigaciones futuras en la determinación del mecanismo de acción.

7.1.6 Ensayo de citotoxicidad (SRB) de los resorcinarenos y los dendrímeros de primera y segunda generación

Por otra parte, siguiendo la metodología descrita en la sección 7.1.1, también se realizaron los ensayos de citotoxicidad a los núcleos o centros de los dendrímeros **34-35**, así como a los resorcinaren-dendrímeros G1.0 **40-41** y G2.0 **45-46**, figura 64. Ya que estos compuestos además de servir como acarreadores de los compuestos 1,4-benzodiazepínicos, pueden tener actividad biológica "per se" que modifique de manera sinérgica o antagónica la actividad biológica de los derivados 1,4-benzodiazepínicos. Los resultados obtenidos para los resorcinaren-dendrímeros G 0.0, G 1.0 y G 2.0 se muestran en la tabla 8.

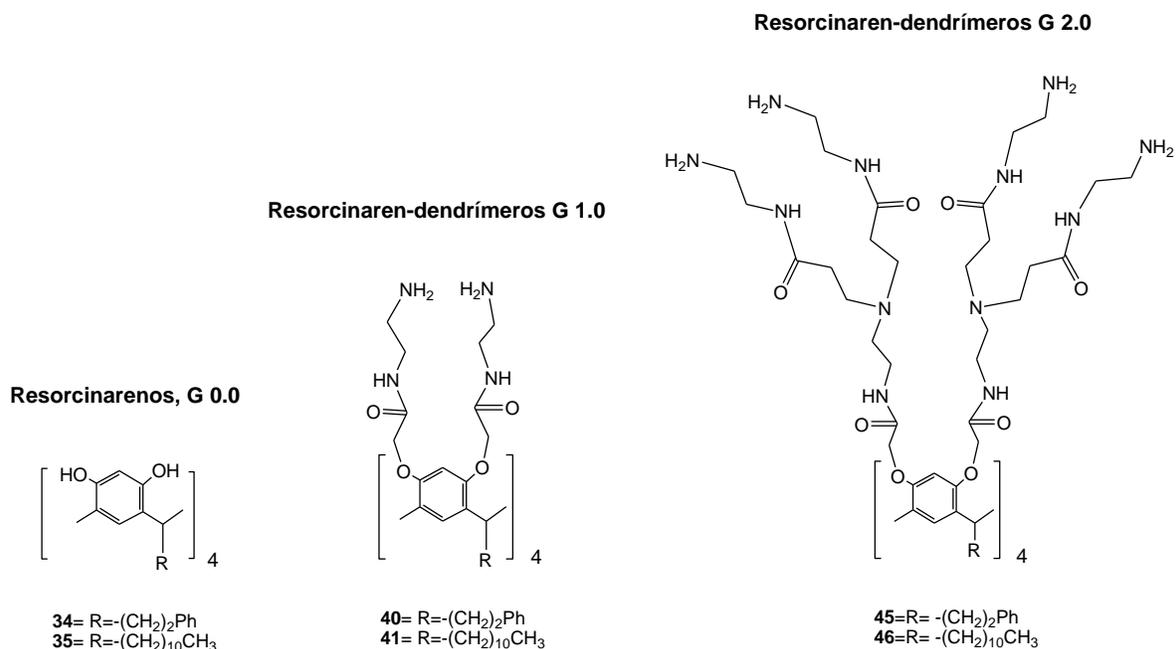


Figura 64. Estructura química de resorcinaren-dendrimeros G 0.0, G 1.0, y G 2.0.

Tabla 8. Ensayo de citotoxicidad en seis líneas celulares de cáncer humano, de los resorcinaren-dendrimeros G 0.0, G 1.0, y G 2.0.

Línea celular/ Inhibición de crecimiento celular (%)						
Compuesto	U-251	PC-3	K-562	HCT-15	MCF-7	SKLU-1
34	47.57	5.4	60.78	14.73	21.46	14.85
35	11.80	1.78	11.67	-----	8.54	6.01
40	37.00	28.96	35.33	34.91	33.21	30.92
41	18.05	-----	17.19	31.54	-----	16.24
45	-----	-----	-----	-----	-----	-----
46	56.52	38.54	100	91.27	91.98	100

U-251 (Glía de sistema nervioso central, SNC), PC-3 (Cáncer de próstata humano), K-562 (Leucemia mieloide crónica humana), HCT-15 (Adenocarcinoma colorectal humano), MCF-7 (Cáncer de mama), SKLU-1 (Adenocarcinoma pulmonar humano)

De acuerdo a los resultados de la tabla 8, en general los resorcinaren-dendrimeros de G 0.0 y G 1.0 presentan una actividad biológica baja. Sin embargo, en la línea celular de leucemia mieloide crónica (K-562) se observa que para los resorcinaren-dendrimeros que llevan unido el anillo aromático al metino puente, la actividad biológica disminuye conforme se incrementa la generación del resorcinaren-dendrimeros: G 0.0 (**34**, 60,78 %) > G 1.0 (**40**, 35.33 %) > G 2.0 (**45**, sin actividad biológica), que puede estar asociado con el crecimiento de las ramificaciones, en el dendrimeros, disminuyendo así el número de sitios activos. Por otra parte en la misma línea celular los resorcinaren-dendrimeros que llevan la cadena alifática unida al metino puente presentan un efecto inverso en la actividad biológica, es decir el incremento en el número de generación incrementa la actividad biológica: G 0.0 (**35**, 11.67 %) < G 1.0 (**41**, 17.19 %) < G 2.0 (**46**, 100 %); efecto que se puede atribuir al carácter lipofílico de la cadena alifática, favoreciendo la solubilidad en el sitio de acción del compuesto. El compuesto **46** resulto ser sumamente activo en cuatro líneas celulares (K-562, HCT-15, MCF-7, y SKLU-1), convirtiéndolo en un fuerte prototipo para el tratamiento del cáncer.

Finalmente una vez determinada la actividad anti-cancerígena de las 1,4-benzodiazepinas, las metilacetato[1,4-benzodiazepinas], los resorcinarenos, así como de los resorcinaren-dendrimeros de primera y segunda generación, se procedió a realizar las pruebas de actividad anti-cancerígena de los conjugados formados con los resorcinaren-dendrimeros y las metilacetato[1,4-benzodiazepinas], con el objetivo de determinar si la formación de estos conjugados aumenta o disminuye la actividad biológica.

7.1.7 Ensayo de citotoxicidad (SRB) de los conjugados de dendrimeros de primera y segunda generación con 1,4-benzodiazepinas

Conjugados con dendrimeros de primera generación

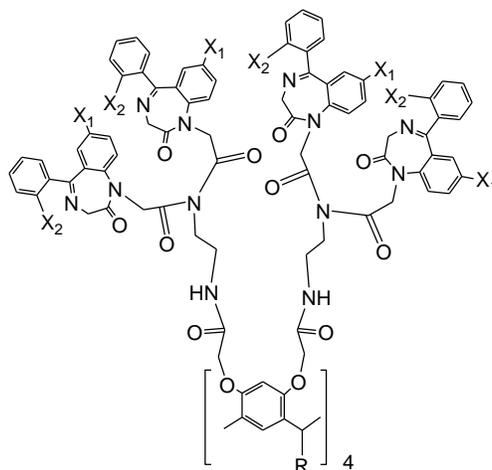
Se realizaron los ensayos de citotoxicidad (SRB) a los conjugados compuestos **94** y **95** respectivamente, figura 65. Dado que los derivados 1,4-benzodiazepínicos, así como los resorcinaren-dendrimeros tienen actividad biológica baja se esperaba que el conjugado mantuviese al menos la actividad biológica más alta de los dos diferentes compuestos. Sin embargo, de acuerdo a los resultados de la tabla 9, se observa que hay un efecto sinérgico al unir estos dos diferentes compuestos con baja actividad biológica.

En el caso del conjugado **94** el porcentaje de inhibición de crecimiento se vio favorecido en las líneas celulares de leucemia mieloide crónica (K-562) aumentando la actividad hasta un 62.78%, y la línea celular de cáncer de mama (MCF-7) con aumento hasta del 51.46 %, generando un compuesto de actividad biológica media y con selectividad a dos líneas celulares de las seis analizadas tabla 9.

Para el conjugado **95** también se vio favorecida la actividad biológica en dos líneas celulares, la línea celular de leucemia mieloide crónica (K-562) con un 62.78 % de inhibición de crecimiento y la línea celular de glia de sistema nervio central (U-251) con un 47.53 % de inhibición de crecimiento tabla 9.

En conclusión la formación de los conjugados **94** y **95** aumentaron notablemente la actividad biológica en tres líneas celulares mediante un efecto sinérgico de dos compuestos con actividad biológica baja. Siendo la línea celular de leucemia mieloide crítica (K-562) la más susceptible al tratamiento con los conjugados de resorcinaren-dendrimeros de primera generación.

Conjugados con resorcinaren-dendrimeros G 1.0



94= X₁= -Cl ; X₂ = -o-Cl, R= -(CH₂)₁₀CH₃,
95= X₁= -Cl ; X₂ = -H, R= -(CH₂)₁₀CH₃,

Figura 65. Estructura química de los conjugados formados con 16 moléculas de 1,4-benzodiazepinas y resorcinaren-dendrimeros G 1.0 (**94,95**).

Conjugados con dendrímeros de segunda generación

Por otra parte también se estudiaron los conjugados con el resorcinaren-dendrímero **45** de segunda generación compuestos **98** y **99** respectivamente, figura 66. En este caso se formaron conjugados del compuesto que carece de actividad biológica como es el caso del resorcinaren-dendrímero G 2.0 que tiene unido un anillo aromático al metino puente del macrociclo **45** y un compuesto de actividad biológica baja (compuestos **90** y **92**,) para observar si nuevamente se presentaba el efecto sinérgico. De acuerdo a los resultados de la tabla 9, se observa un efecto sinérgico pero en menor grado que para los dendrímeros de G 1.0, dicho efecto mejoró la actividad biológica en la línea celular de adenocarcinoma pulmonar humano (SKLU-1) con un porcentaje de inhibición del 60.02 % para el conjugado **99**, así como para la línea celular de Glía de sistema nervioso central (U-251) con el tratamiento del conjugado **98** con un porcentaje de inhibición de crecimiento del 41.80 %, siendo de estos dos el conjugado **99** el más prometedor para el tratamiento de cáncer.

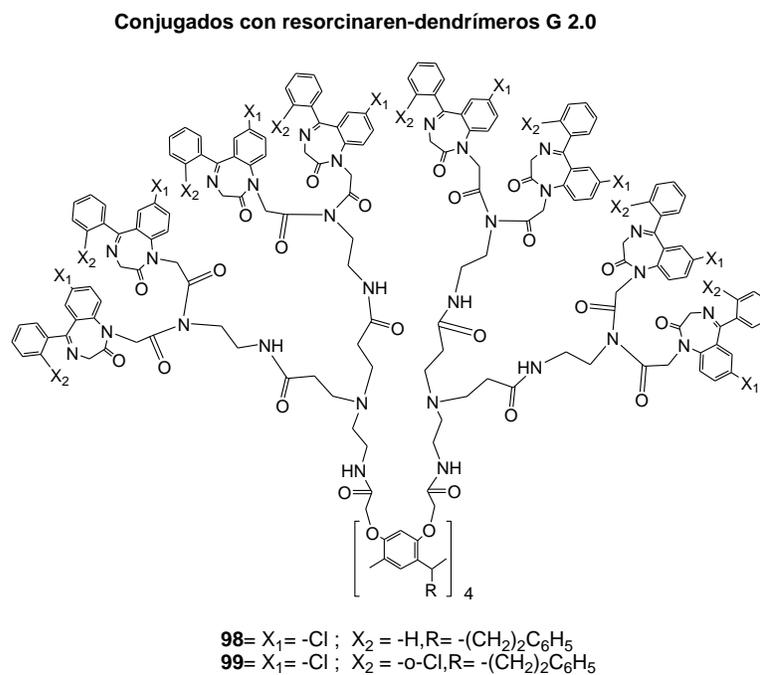


Figura 66. Estructura química de los conjugados formados con 32 moléculas de benzodiazepinas y resorcinaren-dendrímeros G 2.0 (**98,99**).

Tabla 9. Ensayo de citotoxicidad en seis líneas celulares de cáncer humano de los conjugados formados con resorcinaren-dendrímeros G 1.0 (**94** y **95**) y G 2.0 (**98** y **99**).

Línea celular/ Inhibición de crecimiento (%)						
Compuesto	U-251	PC-3	K-562	HCT-15	MCF-7	SKLU-1
94	37.57	35.4	62.78	34.73	51.46	44.85
95	47.53	9.4	62.78	19.73	24.46	34.85
98	41.80	23.78	27.67	22.57	12.54	26.01
99	37.00	28.96	45.33	14.91	33.21	60.92

U-251 (Glía de sistema nervioso central, SNC), PC-3 (Cáncer de próstata humano), K-562 (Leucemia mieloide crónica humana), HCT-15 (Adenocarcinoma colorectal humano), MCF-7 (Cáncer de mama), SKLU-1 (Adenocarcinoma pulmonar humano).

Como prueba final se determinó la concentración inhibitoria 50 (CI_{50}) a los conjugados **94**, **95**, **98** y **99**, en tres líneas celulares PC-3, HCT-15 y SKLU-1. Utilizando como fármaco de referencia al cis-platino. Los resultados de este estudio se muestran en la tabla 10. De acuerdo a los datos de la tabla 10, el compuesto **94** tiene la CI_{50} más baja (15.40 ± 2.3 , 18.85 ± 0.75 y $15.69 \pm 0.24 \mu\text{M}$), con valores cercanos a los obtenidos con el cis-platino, (15.20 ± 1.4 , 13.83 ± 0.7 y $7.13 \pm 0.242 \mu\text{M}$). Al parecer la presencia del sustituyente cloro en el anillo C de la 1,4-benzodiazepina, permite mejores resultados en el porcentaje de inhibición de crecimiento así como en los valores del IC_{50} (μM), para el caso del conjugado formado con dendrímeros de primera generación.

Tabla 10. Concentración inhibitoria 50 (CI_{50} , μM), de los compuestos **94**, **95**, **98** y **99** en DMSO.

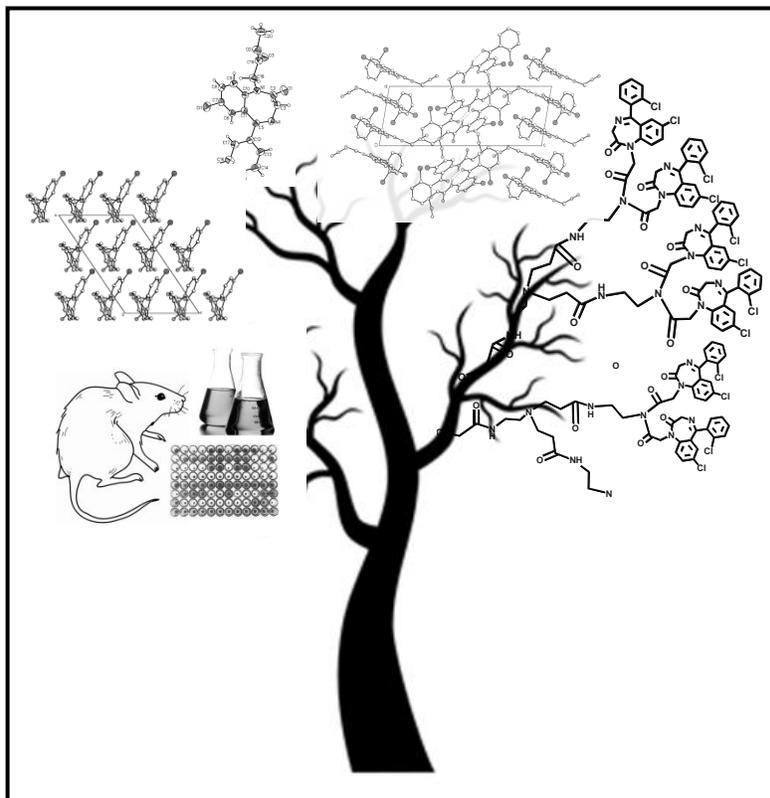
Línea celular / CI_{50} (μM)			
Compuesto	PC-3	HCT-15	SKLU-1
94	15.40 \pm 2.3	18.85 \pm 0.75	15.69 \pm 0.24
95	38.54 \pm 4.6	35.43 \pm 2.5	39.71 \pm 2.3
98	20.86 \pm 1.6	23.62 \pm 1.9	22.64 \pm 1.0
99	40.84 \pm 1.6	33.52 \pm 1.9	32.44 \pm 1.0
Cis-platino	15.20 \pm 1.4	13.83 \pm 0.7	7.13 \pm 0.2

PC-3 (Cáncer de próstata humano), HCT-15 (Adenocarcinoma colorectal humano), SKLU-1 (Adenocarcinoma pulmonar humano).

Con base en los resultados descritos en los apartados anteriores para la prueba de sulforodamina B, en el cual se determinó el porcentaje de inhibición de crecimiento celular *in vitro* en seis diferentes líneas celulares de cáncer humano (K-562, SKLU-1, HCT-15, PC-3, MCF-7, U251), se logró llegar a las siguientes conclusiones:

- Con respecto a los derivados de 2-aminobenzofena, el compuesto **57**, 2-amino-2',5-dicloroaminobenzofenona resultó ser el más activo en tres líneas celulares K-562 (Leucemia mieloide crónica humana), la HCT-15 (Adenocarcinoma colorectal humano) y la SKLU-1 (Adenocarcinoma pulmonar humano), lo que lo convierte en un excelente prototipo en el tratamiento de cáncer humano.
- La formación del anillo 1,4-benzodiapínico modifica notablemente la actividad biológica, de forma particular a los compuestos que tienen como sustituyente el cloro en la posición 7 del anillo 1,4-benzodiazepínico, disminuyendo los porcentajes de inhibición de crecimiento en todas las líneas celulares.

- La N-alquilación en las 1,4-benzodiazepinas disminuyó considerablemente el porcentaje de inhibición de crecimiento en las seis líneas celulares con respecto a las 1,4 benzodiazepinas libres, manteniéndose como la más activa la que presenta dos cloros en su estructura.
- El incremento de generación y el sustituyente que se encuentra unido al metino puente en los resorcinaren-dendrímeros repercuten notablemente en la actividad biológica, en el caso de los resorcinarendendrímeros que tienen unido al metino puente un anillo aromático, el incremento de generación disminuyó la actividad biológica $G_{0.0} > G_{1.0}, G_{2.0}$; mientras que para los resorcinaren-dendrímeros que tienen unido al metino puente la cadena alifática el incremento de generación favoreció la actividad biológica $G_{0.0}, G_{1.0}, G_{2.0}$
- La formación de los conjugados de primera generación **94** y **95** aumentaron notablemente la actividad biológica en tres líneas celulares mediante un efecto sinérgico, entre el resorcinaren-dendrímero y la 1,4-benzodiazepina; en donde nuevamente el conjugado formado con la 1,4-benzodiazepina con dos cloros en su estructura resulto ser el más activo. Siendo la línea celular de leucemia mieloide crónica (K-562) la más susceptible al tratamiento con los conjugados de resorcinaren-dendrímeros de primera generación.
- Los conjugados de segunda generación **98** y **99** a pesar de presentar una mayor cantidad de benzodiazepinas (32 moléculas) en su periferia, no presentaron un aumento considerable en la actividad biológica, aunque nuevamente se ve presente el efecto sinérgico entre las moléculas de resorcinaren-dendrímero y 1,4-benzodiazepina, siendo el conjugado más activo el formado con la benzodiazepina con dos cloros en su estructura. Siendo la línea celular de adenocarcinoma pulmonar (SKLU-1) la más susceptible al tratamiento.



CAPÍTULO 8

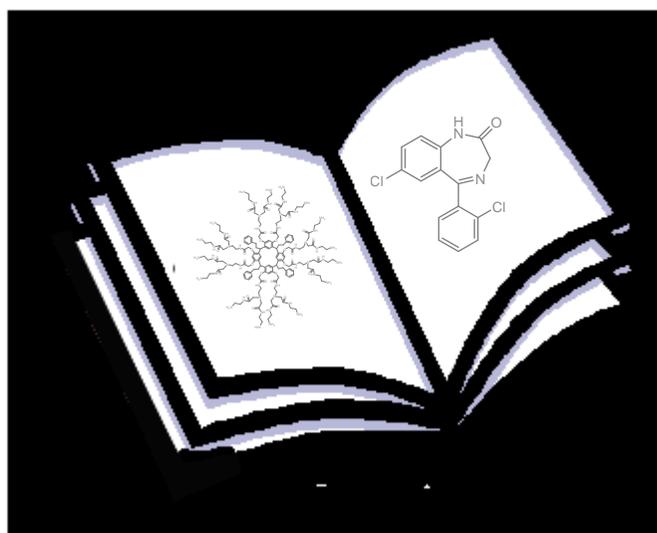
CONCLUSIONES

- Se logró satisfactoriamente la síntesis de dos resorcinaren-dendrímeros de primera y segunda generación a través de una síntesis divergente, teniendo como núcleo o centro dendrítico moléculas de resorcinarenos unidos a ocho brazos dendríticos tipo polidoamida, con aminas primarias terminales.
- De acuerdo a los datos espectroscópicos de RMN ^1H y de ^{13}C los resorcinarenos usados como centros dendríticos, presentan la conformación de corona tipo *rccc*, esta conformación se mantiene en la construcción de los dendrímeros. Lo que favoreció la ausencia de impedimento estérico
- Se realizó la síntesis de 11 derivados de 2-aminobenzofenona, mediante una acilación de Friedel y Crafts usando como ácido de Lewis el ZnCl_2 anhidro. Y cuando se emplearon otros ácidos de Lewis como el AlCl_3 , ZnO y el propio ZnCl_2 húmedo, se observó la formación de amidas, esto se confirmó mediante difracción de rayos X.
- Se obtuvieron satisfactoriamente las 1,4-benzodiazepin-2-onas a partir de los derivados de 2-aminobenzofenonas, mediante una ciclización intramolecular tipo aza-Wittig. Durante la síntesis de las 2-aminobenzofenonas, la estructura de por lo menos uno de los intermediarios fue confirmada por el estudio de difracción de rayos X.
- Se sintetizaron derivados metilacetato[1,4-benzodiazepin-2-onas] mediante una N-alkilación al N1 de las 1,4-benzodiazepin-2-onas. La estructura de uno de los derivados metilacetato[1,4-benzodiazepin-2-onas] se confirmó mediante el estudio de difracción de rayos X.
- Se sintetizaron por primera vez los conjugados entre los resorcinaren-dendrímeros de primera generación y los derivados metilacetato[1,4-benzodiazepin-2-onas], los cuales presentan 16 moléculas de 1,4-benzodiazepin-2-onas en la periferia.
- Se sintetizaron por primera vez conjugados entre los resorcinaren-dendrímeros de segunda generación y los derivados metilacetato[1,4-benzodiazepin-2-onas], los cuales presentan 32 moléculas de 1,4-benzodiazepin-2-onas en la periferia.

- Todos y cada uno de los compuestos sintetizados fueron caracterizados por las técnicas espectroscópicas de RMN de ^1H y ^{13}C , FTIR, UV-vis, así como por espectrometría de masas y análisis elemental. Con base en los datos de RMN de ^1H y ^{13}C se concluyó que los núcleos conservan su conformación de corona tipo *rccc*.
- Se realizaron estudios de citotoxicidad en macrófagos a las 2-aminobenzofenonas a una concentración de 50 μM , observándose que presentan una actividad citotóxica menor del 20 % e inclusive nula.
- Se realizaron estudios de actividad anti-cancerígena a los derivados de 2-aminobenzofenona, en seis diferentes líneas celulares de cáncer humano, observándose que la 2-amino-2',5-dicloroaminobenzofenona fue activa en tres líneas celulares; K-562 (Leucemia mieloide crónica humana), la HCT-15 (Adenocarcinoma colorectal humano) y la SKLU-1 (Adenocarcinoma pulmonar humano), lo que lo convierte en un excelente prototipo en el tratamiento de cáncer humano.
- Se realizaron estudios de actividad anti-cancerígena a las 1,4-benzodiazepin-2-onas observándose que la formación del anillo 1,4-benzodiazepínico y la N-alkilación al N1 del anillo benzodiazepínico modifican notablemente la actividad biológica, de forma particular a los compuestos sustituidos por cloro en la posición 7 del anillo 1,4-benzodiazepínico, disminuyendo los porcentajes de inhibición de crecimiento en todas las líneas celulares.
- Se realizaron estudios de actividad anti-cancerígena a los resorcinarenos y a los resorcinaren-dendrímeros de primera y segunda generación, observándose que en los dendrímeros con el grupo etil-benceno en la parte inferior, el incremento de generación disminuyó la actividad biológica $G 0.0 > G1.0 > G2.0$. Mientras que para los resorcinaren-dendrímeros que tienen la cadena alifática en la parte inferior, el incremento de generación favoreció la actividad biológica $G 0.0 < G 1.0 < G 2.0$.
- La formación de los conjugados de primera generación presentaron un efecto sinérgico, entre los resorcinaren-dendrímeros y las 1,4-benzodiazepinas; en donde el conjugado formado con la 1,4-benzodiazepina con dos cloros en su estructura resultó ser el más

activo. Siendo la línea celular de leucemia mieloide crónica (K-562) la más susceptible al tratamiento con los conjugados de resorcinaren-dendrimeros de primera generación.

- Los conjugados de segunda generación a pesar de presentar 32 moléculas de 1,4-benzodiazepinas en su periferia, no presentaron un aumento considerable en la actividad biológica, como en el caso de los conjugados de primera generación, aunque si hubo un efecto sinérgico entre las moléculas de resorcineren-dendrimeros y las 1,4-benzodiazepinas, siendo el conjugado más activo el formado con la benzodiazepina con dos cloros en su estructura y la línea celular de adenocarcinoma pulmonar (SKLU-1) resulto ser la más susceptible al tratamiento.



CAPITULO 9

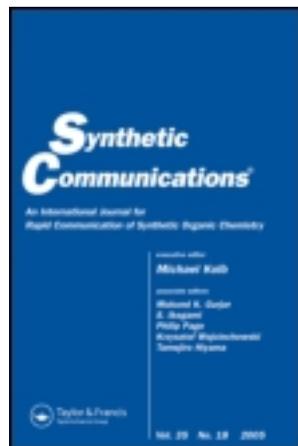
ANEXO

This article was downloaded by: [UNAM Ciudad Universitaria]

On: 26 October 2011, At: 09:25

Publisher: Taylor & Francis

Informa Ltd Registered in England and Wales Registered Number: 1072954 Registered office: Mortimer House, 37-41 Mortimer Street, London W1T 3JH, UK



Synthetic Communications

Publication details, including instructions for authors and subscription information:

<http://www.tandfonline.com/loi/lsyc20>

Synthesis of 2-Aminobenzophenone Derivatives and Their Anticancer Activity

S. Cortez-Maya^a, E. Cortes Cortes^a, S. Hernández-Ortega^a, T. Ramirez Apan^a & M. Martínez-García^a

^a Instituto de Química, Universidad Nacional Autónoma de México, Coyoacán, México

Available online: 27 Jun 2011

To cite this article: S. Cortez-Maya, E. Cortes Cortes, S. Hernández-Ortega, T. Ramirez Apan & M. Martínez-García (2012): Synthesis of 2-Aminobenzophenone Derivatives and Their Anticancer Activity, *Synthetic Communications*, 42:1, 46-54

To link to this article: <http://dx.doi.org/10.1080/00397911.2010.521435>

PLEASE SCROLL DOWN FOR ARTICLE

Full terms and conditions of use: <http://www.tandfonline.com/page/terms-and-conditions>

This article may be used for research, teaching, and private study purposes. Any substantial or systematic reproduction, redistribution, reselling, loan, sub-licensing, systematic supply, or distribution in any form to anyone is expressly forbidden.

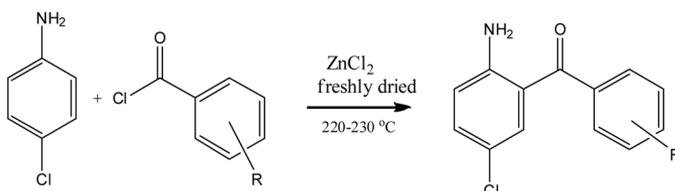
The publisher does not give any warranty express or implied or make any representation that the contents will be complete or accurate or up to date. The accuracy of any instructions, formulae, and drug doses should be independently verified with primary sources. The publisher shall not be liable for any loss, actions, claims, proceedings, demand, or costs or damages whatsoever or howsoever caused arising directly or indirectly in connection with or arising out of the use of this material.

SYNTHESIS OF 2-AMINO BENZOPHENONE DERIVATIVES AND THEIR ANTICANCER ACTIVITY

S. Cortez-Maya, E. Cortes Cortes, S. Hernández-Ortega,
T. Ramírez Apan, and M. Martínez-García

*Instituto de Química, Universidad Nacional Autónoma de México,
Coyoacán, México*

GRAPHICAL ABSTRACT



Abstract A number of 2-aminobenzophenones have been synthesized by acylation of para-chloroaniline with different 2-, 3-, 4-chloro- or fluorobenzoyl chloride in solid state via the Friedel–Crafts reaction. Synthesized compounds were characterized by ¹H and ¹³C NMR, Fourier transform–infrared, ultraviolet–visible spectroscopy, mass spectrometry, and elemental analysis. Evaluation of biological activity in vitro showed that the selected compounds **9**, **10**, and **13** have potential anticancer activity. The presence of one chlorine atom in the second aromatic ring of the benzophenone molecule makes it more active.

Keywords Aminobenzophenones; anticancer activity; benzodiazepine intermediates; biological activity; Friedel–Crafts acylation

INTRODUCTION

The development of resistance to current antibiotics continues to be an important problem in the treatment of various diseases.^[1–4] Therefore, the synthesis of new drugs is a high-priority area of biochemical research. Aminobenzophenones are a new class of biologically active compounds. A great variety of aminobenzophenones and their derivatives have been synthesized. These compounds showed different types of biological activity such as antitumoral and anticonvulsive activities^[5] and activity against the hepatitis C RNA virus.^[6] Some aminobenzophenones showed high activity against a panel of human cancer cell lines including multidrug-resistant ones.^[7,11] In addition, aminobenzophenones are intermediates in the

Received April 21, 2010.

Address correspondence to M. Martínez-García, Instituto de Química, Universidad Nacional Autónoma de México, Cd. Universitaria, Circuito Exterior, Coyoacán, C.P. 04510, México D.F., México. E-mail: margar@servidor.unam.mx

synthesis of benzodiazepine derivatives,^[9] more than 10,000 of which were found to have pharmacological properties. Several of them are commercially applied. Recently, it has been shown that aminobenzophenones with an amino group in the *ortho* position of the benzophenone ring show interesting biological activity characteristics.^[10,11] In the present work, we report the synthesis of a series of 2-amino-5-chloro-benzophenones, chloro- or fluoro-substituted in *ortho*-, *meta*-, or *para*-positions, and results of their biological activity against six human cancer cell lines.

RESULTS AND DISCUSSION

Synthesis and Characterization of Aminobenzophenones

The synthesis of 2-aminobenzophenones **9–15** was achieved starting from *para*-chloroaniline and substituted benzoyl chlorides (Scheme 1) using freshly dried ZnCl₂ as a catalyst.^[12,13] The 2-aminobenzophenones were obtained in good yields (from 40 to 50%).

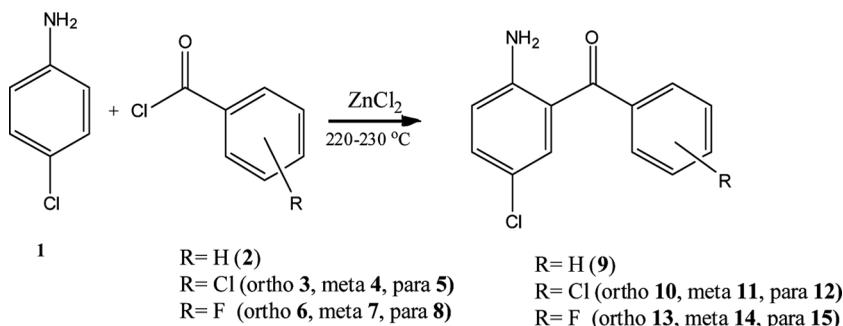
The structures of 2-aminobenzophenones **9–15** were determined by ¹H and ¹³C NMR, Fourier transform–infrared (FTIR), ultraviolet–visible (UV-vis) spectroscopy, mass spectrometry, and elemental analysis.

When the same reaction was carried out using ZnCl₂ that had not been dried previously, only the amide products were obtained in most cases (Scheme 2). For example, the reaction between *para*-chloroaniline and 4-fluorobenzoyl chloride in the presence of untreated ZnCl₂ catalyst resulted in *N*-(4-chlorophenyl)-4-fluorobenzamide with 80% yield.

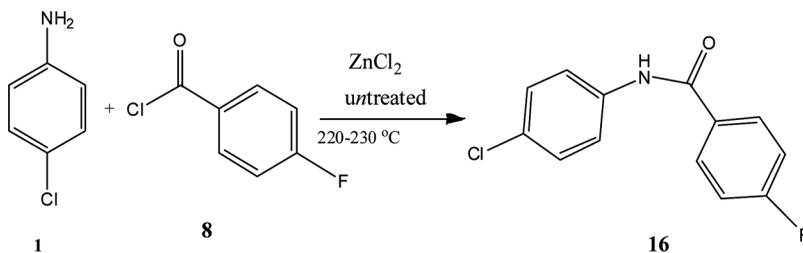
The structure of compound **16** was determined by ¹H and ¹³C NMR, FTIR, UV-vis spectroscopy, mass spectrometry, and elemental analysis and was confirmed by x-ray diffraction analysis of a single crystal prepared by crystallization from CH₂Cl₂. The general view of the crystal structure of compound **16** is shown in Fig. 1.

Cytotoxic Activity

The cytotoxic activity of the synthesized 2-aminobenzophenones **9–15** was tested in macrophages, and three compounds [free benzophenone **9** and benzophenones with chloro- or fluoro-substituents in *ortho*-position (compounds **10** and **13**, respectively)] were chosen for the evaluation of their biological activity against



Scheme 1. Synthesis of 2-amino-5-chlorobenzophenone derivatives **9–15**.



Scheme 2. Synthesis of *N*-(4-chlorophenyl)benzamide derivative **16**.

cancer. The rest of the compounds were discarded because of lower activity. The selected compounds **9**, **10**, and **13** were screened in vitro against six human cancer cell lines. K-562 (human chronic myelogenous leukemia), SKLU-1 (human lung adenocarcinoma), and HCT-15 (human colorectal adenocarcinoma) cell lines were supplied by the National Cancer Institute (NCI, USA). The human tumor cytotoxicity was determined using the protein-binding dye sulforhodamine B (SRB) in microculture assay to measure cell growth, as described in the protocols established by the NCI.^[14] The cell lines were cultured in RPMI-1640 medium supplemented with 10% fetal bovine serum, 2 mM L-glutamine, 10000 units/ml penicillin G sodium,

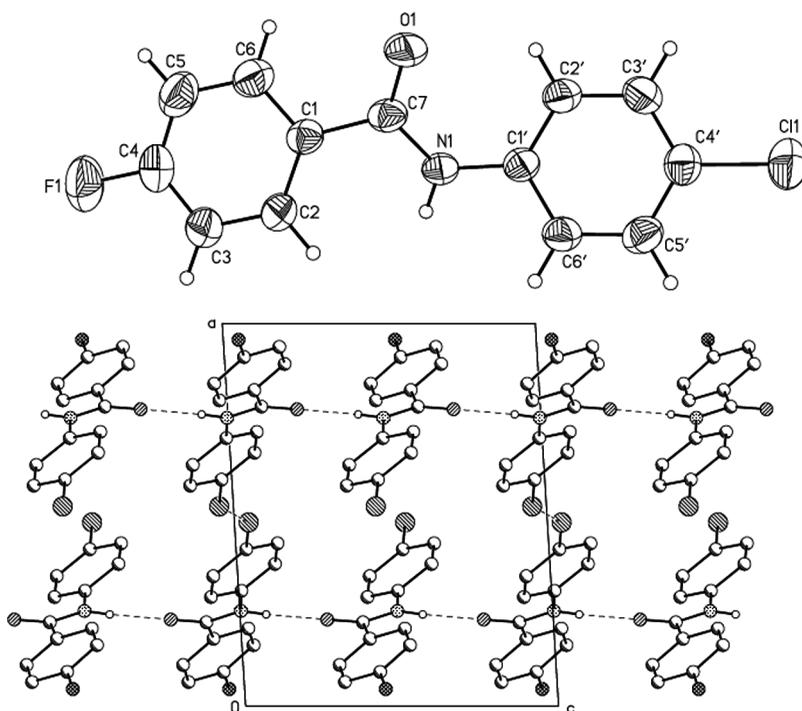


Figure 1. Crystal structure and crystal packing of **16**. Selected bond lengths (Å): N(1)–C(1') = 1.422(2), N(1)–C(7) = 1.343(2), O(1)–C(7) = 1.226(2), F(1)–C(4) = 1.366(2), Cl(1)–C(4') = 1.739(2). Selected bond angles (°): C(7)–N(1)–C(1') = 126.39(16), C(7)–N(1)–H(1) = 120.7(12), C(1')–N(1)–H(1) = 112.8(12), O(1)–C(7)–N(1) = 122.24(19), O(1)–C(7)–C(1) = 120.99(17), N(1)–C(7)–C(1) = 116.76(17).

Table 1. Inhibition on the growth (%) of human tumor cell lines for **9**, **10**, and **13** at 50 μM in DMSO

Compound	Cell line					
	U-251	PC-3	K-562	HCT-15	MCF-7	SKLU
9	16.06	21.77	49.37	66.56	73.04	25.64
10	62.04	58.6	89.92	95.43	67.84	81.47
13	52.85	40.72	98.36	75.89	78.36	76.86

Table 2. Inhibitory concentration (IC_{50}) (μM) values obtained in K-562, HCT-15, and SKLU-1 cell lines for compounds **9**, **10**, and **13** in DMSO

Compounds	K-562	HCT-15	SKLU-1
9	58.54 \pm 4.6	45.43 \pm 2.5	59.71 \pm 2.3
10	25.48 \pm 2.3	18.87 \pm 0.75	15.59 \pm 0.24
13	40.86 \pm 1.6	33.62 \pm 1.9	32.64 \pm 1.0
Cis-platin	15.20 \pm 1.4	13.83 \pm 0.7	7.13 \pm 0.2

10000 $\mu\text{g}/\text{ml}$ streptomycin sulfate, 25 $\mu\text{g}/\text{ml}$ amphotericin B (Gibco), and 1% non-essential amino acids (Gibco). They were maintained at 37 $^{\circ}\text{C}$ in a humidified atmosphere with 5% CO_2 . The viability of the cells used in the experiments exceeds 95% as determined with trypan blue. The initially obtained cytotoxic screening data (Table 1) show that the selected compounds have good activities, especially halogen-substituted ones, and that the activity depends on the nature of the halogen substituent.

The inhibitory concentration (IC_{50}) values were only determined for those lines (K-562, HCT-15, and SKLU-1), for which almost all of the IC_{50} values were lower than 60 μM , and were compared to the results obtained with the *cis*-platin cytotoxic agent (Table 2). For the three cell lines, compound **10** was found to be the most potent among all 2-aminobenzophenones studied, exhibiting the lowest inhibitory concentrations (25.48 \pm 2.3, 18.87 \pm 0.75 and 15.59 \pm 0.24 μM , Table 2). The comparison of the activity of chloro-derivative (compound **10**) with that of the corresponding fluoro-derivative (compound **13**) indicates that the presence of a chlorine atom in the second ring of the benzophenone gives better results for cancer inhibition.

In conclusion, in the present work it was observed that 2-aminobenzophenones with chloro- or fluoro-substituents in the second ring can be obtained in good yields from *para*-chloroaniline and benzoyl chloride using freshly dried ZnCl_2 as a catalyst. When untreated ZnCl_2 catalyst is used, only amide compounds are obtained from the same reactants. Biological activity tests showed that the synthesized 2-aminobenzophenones compounds have potential activity against cancer, which was enhanced in the presence of a chloro-substituent in the second ring of the 2-aminobenzophenones.

EXPERIMENTAL

Materials and Equipment

Solvents and chemicals were purchased from Aldrich as reagent grade and used without further purification. Column chromatography was performed on silica

gel 60 Å, Merck (70–230 mesh). ^1H and ^{13}C NMR spectra were recorded on a Varian-Unity 300-MHz instrument with tetramethylsilane (TMS) as an internal reference. Infrared (IR) spectra were measured on a Nicolet FT-SSX spectrophotometer. Elemental analyses were performed by Galbraith Laboratories, Inc., Knoxville. Electron impact (EI) mass spectra were taken on a Jeol JMS AX505 HA instrument.

Cytotoxicity Assay

The cells were removed from the tissue culture flasks and diluted with fresh media. Of these cell suspensions, 100 μl (containing 5000 or 10,000 cell per well) were pipetted into 96-well microtiter plates (Costar), and the material was incubated at 37 °C for 24 h in a 5% CO_2 atmosphere. Subsequently, 100 μl of a solution of the test compounds, obtained by diluting the stocks, were added to each well. The cultures were exposed for 48 h to the drug at concentrations ranging from 10 to 100 μM .

After the incubation period, cells were fixed to the plastic substratum by the addition of 50 μl of cold 50% aqueous trichloroacetic acid. The plates were incubated at 4 °C for 1 h, washed with tap H_2O , and air dried. The trichloroacetic-acid-fixed cells were stained by the addition of 0.4% SRB. Free SRB solution was removed by washing with 1% aqueous acetic acid. The plates were air dried, and the bound dye was solubilized by addition of 10 mM unbuffered Tris base (100 μl). The plates were placed on a shaker for 5 min, and the absorption was determined at 515 nm using an ELISA plates reader (Bio-Tex Instruments).

General Procedure for the Preparation of 2-Aminobenzophenones

To 21.0 mmol of the corresponding benzoyl chloride, 8.4 mmol of *p*-chloroaniline were added. Then the mixture was heated to about 180–200 °C, 10.08 mmol of anhydrous ZnCl_2 were added slowly, and the temperature was gradually increased to 220–230 °C. The reaction mixture was maintained at reflux for 3 h. Then it was cooled to 120 °C, and hot water was added to remove the benzoic acid, giving a green-brown product. The obtained green-brown product was added to a mixture of H_2SO_4 , CH_3COOH , and H_2O (5.0:3.5:3.0 mL) and refluxed for 40 min. Then, about 20–25 mL of ice-water mixture was added, and the reaction mixture was subsequently extracted using dichloromethane. The organic phase was washed three times using water and a solution of 10% ammonium hydroxide to neutralize it. The organic phase was dried with anhydrous sodium sulfate. Its vacuum evaporation yielded a brown-yellow solid, which was purified by column chromatography (SiO_2 , 1:2 ethylacetate/hexanes mixture as eluent).

Select Data

(2-Aminophenyl)-phenyl-methanone 9. Known compound, mp 86–88 °C.^[13]

(2-Amino-5-chlorophenyl)(2-chlorophenyl)methanone 10. Known compound, mp 87–89 °C.^[13]

(2-Amino-5-chlorophenyl)(3-chlorophenyl)methanone 11. Yellow solid, mp: 100–102 °C; UV-vis (CH₂Cl₂, λ nm): 394, 235, 204; FTIR (KBr, cm⁻¹): 3435, 3322, 1616, 1590, 1530, 1466, 1294, 1152, 940, 754, 633, 498; ¹H NMR (CDCl₃): 6.75 (d, 1H, Ar-3, *J* = 8.8 Hz), 7.26 (dd, 1H, Ar-4, *J* = 2.4 Hz), 7.41 (d, 1H, Ar-6, *J* = 2.4 Hz), 7.45–7.48 (m, 1H, Ar-5'), 7.52–5.55 (m, 1H, Ar-4'), 7.56 (br, 2H, NH₂), 7.62 (d, 1H, Ar-2', *J* = 2.0 Hz), 7.63–7.67 (m, 1H, Ar-6'); ¹³C NMR (CDCl₃): 112.6 (Ar-1), 117.2 (Ar-3), 126.4 (Ar-5), 127.9 (Ar-6), 128.7 (Ar-3',5'), 131.8 (Ar-2',6'), 136.9 (Ar-1'), 137.7 (Ar-4), 138.7 (Ar-4'), 154.3 (Ar-2), 195.4 (C=O); MS *m/z*: 266. Anal. calcd. for C₁₃H₉Cl₂NO: C, 58.67; H, 3.41; N, 5.26. Found: C, 58.68; H, 3.41; N, 5.25.

(2-Amino-5-chlorophenyl)(4-chlorophenyl)methanone 12. Yellow solid, mp: 100–102 °C; UV-vis (CH₂Cl₂, λ nm): 394, 235, 204; FTIR (KBr, cm⁻¹): 3435, 3322, 1616, 1590, 1530, 1466, 1294, 1152, 940, 754, 633, 498; ¹H NMR (CDCl₃): 6.77 (d, 1H, Ar-3, *J* = 8.8 Hz), 7.26 (dd, 1H, Ar-4, *J* = 2.6 Hz), 7.41 (d, 1H, Ar-6, *J* = 2.4 Hz), 7.45–7.48 (m, 1H, Ar-5'), 7.52–5.55 (m, 1H, Ar-3'), 7.56 (br, 2H, NH₂), 7.62 (d, 1H, Ar-2', *J* = 2.0 Hz), 7.63–7.67 (m, 1H, Ar-6'); ¹³C NMR (CDCl₃): 112.6 (Ar-1), 117.2 (Ar-3), 126.4 (Ar-5), 127.7 (Ar-6), 128.7 (Ar-3',5'), 131.8 (Ar-2',6'), 136.9 (Ar-1'), 137.7 (Ar-4), 138.7 (Ar-4'), 154.3 (Ar-2), 195.4 (C=O); MS *m/z*: 266. Anal. calcd. for C₁₃H₉Cl₂NO: C, 58.67; H, 3.41; N, 5.26. Found: C, 58.68; H, 3.41; N, 5.25.

(2-Amino-5-chlorophenyl)(2-fluorophenyl)methanone 13. Yellow solid, mp: 63–65 °C; UV-vis (CH₂Cl₂, λ nm): 392, 235, 205; FTIR (KBr, cm⁻¹): 3443, 3333, 1619, 1539, 1455, 1318, 1299, 1239, 1215, 1150, 947, 755, 645; ¹H NMR (CDCl₃): 6.71 (d, 1H, Ar-3, *J* = 9.0 Hz), 7.12 (d, 1H, Ar-3', *J* = 0.8 Hz), 7.17 (t, 1H, Ar-5', *J* = 1.1 Hz), 7.22–7.29 (m, 1H, Ar-4'), 7.39 (dd, 1H, Ar-4, *J* = 2.0, 1.4 Hz), 7.44–7.49 (m, 1H, Ar-6); 7.51–7.56 (m, 1H, Ar-6'); ¹³C NMR (CDCl₃): 116.0, 116.4 (Ar-1), 118.7 (Ar-3), 119.0, 120.6 (Ar-3'), 124.2, 124.3 (Ar-5'), 127.6, 127.9 (Ar-1'), 129.4 (Ar-5), 129.6, 129.7 (Ar-6'), 132.1, 132.3 (Ar-6), 133.0 (Ar-4'), 135.0 (Ar-4), 148.8 (Ar-2'), 156.5 (Ar-2), 161.5 (Ar-2'), 194.3 (C=O); MS *m/z*: 249. Anal. calcd. for C₁₃H₉ClFNO: C, 62.54; H, 3.63; N, 5.61. Found: C, 62.53; H, 3.63; N, 5.60.

(2-Amino-5-chlorophenyl)(3-fluorophenyl)methanone 14. Yellow solid, mp: 106–108 °C; UV-vis (CH₂Cl₂, λ nm): 392, 235, 204; FTIR (KBr, cm⁻¹): 3462, 3348, 1630, 1580, 1540, 1471, 1436, 1243, 1162, 769, 523; ¹H NMR (CDCl₃): 6.00 (br, 2H, NH₂), 6.70 (d, 1H, Ar-3, *J* = 8.8 Hz), 7.12 (d, 1H, Ar-3', *J* = 0.8 Hz), 7.18 (t, 1H, Ar-5', *J* = 1.1 Hz), 7.26 (dd, 1H, Ar-4, *J* = 2.0, 1.4 Hz), 7.37 (d, 1H, Ar-6), 7.66 (d, 2H, Ar-6'), 7.68 (d, 1H, Ar-2'); ¹³C NMR (CDCl₃): 115.1, 115.7 (Ar-2',4'), 118.5 (Ar-3), 120.0 (Ar-1), 121.6, 121.7 (Ar-6'), 122.8 (Ar-6), 123.0 (Ar-5), 132.5, 132.8 (Ar-5'), 134.2 (Ar-4), 135.4, 135.7 (Ar-1'), 154.2 (Ar-2), 163.1, 166.4 (Ar-3'), 196.3 (C=O); MS *m/z*: 249. anal. calcd. for C₁₃H₉ClFNO: C, 62.54; H, 3.63; N, 5.61. Found: C, 62.53; H, 3.63; N, 5.60.

(2-Amino-5-chlorophenyl)(4-fluorophenyl)methanone 15. Yellow solid, mp: 106–108 °C; UV-vis (CH₂Cl₂, λ nm): 392, 235, 204; FTIR (KBr, cm⁻¹): 3462, 3348, 1630, 1580, 1540, 1471, 1436, 1243, 1162, 769, 523; ¹H NMR (CDCl₃): 5.98 (br, 2H, NH₂), 6.70 (d, 1H, Ar-3, *J* = 9.0 Hz), 7.16 (m, 1H, Ar-3'), 7.13–7.19 (m, 2H, Ar-3',5'), 7.20–7.36 (m, 1H, Ar-6), 7.36 (d, 1H, Ar-4, *J* = 2.4 Hz), 7.67 (dd, 2H,

Ar-2',6'); ^{13}C NMR (CDCl_3): 115.3, 115.6 (Ar-3',5'), 118.4 (Ar-3), 118.7 (Ar-5), 120.0 (Ar-1), 131.6, 131.7 (Ar-2',6'), 132.8 (Ar-6), 134.2 (Ar-4), 135.4 (Ar-1'), 149.2 (Ar-2), 163.1, 166.4 (Ar-4'), 196.3 (C=O); MS m/z : 249. Anal. calcd. for $\text{C}_{13}\text{H}_9\text{ClFNO}$: C, 62.54; H, 3.63; N, 5.61. Found: C, 62.53; H, 3.63; N, 5.60.

Crystal Structure Determination

A suitable crystal of compound **16** (obtained by crystallization from CH_2Cl_2 at room temperature) was rolled in epoxy resin and mounted on a glass fiber. Bruker Apex AXS CCD area detector x-ray diffractometer was the instrument used for determination. The data were first reduced and corrected for absorption using psi scans and then solved using the program SHELL-XS. All nonhydrogen atoms were refined using the anisotropic thermal parameters, and the hydrogen atoms were refined at calculated positions by applying thermal parameters constrained to the carbon atom on which they were attached. A summary of the key crystallographic information is given in Table 3. CCDC 778732 contains the supplementary crystallographic data for this article. These data can be obtained free of charge via www.ccdc.cam.ac.uk/conts/retrieving.html (or from the CCDC, 12 Union Road, Cambridge CB2 1EZ, UK; fax: +44 1223 336033; e-mail: deposit@ccdc.cam.ac.uk).

Table 3. Crystal data and structure refinement

Parameter	Value
Empirical formula	$\text{C}_{13}\text{H}_9\text{ClFNO}$
Formula weight	249.66
Temperature	298(2) K
Wavelength	0.71073 Å
Crystal system	Monoclinic
Space group	P 21/c
Unit cell dimensions	a = 12.081(2) Å, $\alpha = 90^\circ$ b = 9.7923(16) Å, $\beta = 93.514(3)^\circ$ c = 9.9142(16) Å, $\gamma = 90^\circ$
Volume	1170.6(3) Å ³
Z	4
Density (calculated)	1.417 Mg/m ³
Absorption coefficient	0.320 mm ⁻¹
F(000)	512
Crystal size/shape/color	0.40 × 0.10 × 0.10 mm/prism/colorless
Theta range for data collection	1.69 to 25.30°
Index ranges	-14 <= h <= 14, -11 <= k <= 11, -11 <= l <= 11
Reflections collected	9420
Independent reflections	2135 [R(int) = 0.0622]
Completeness to theta =	25.30° 100.0%
Absorption correction	None
Refinement method	Full-matrix least-squares on F ²
Data/restraints/parameters	2135/1/157
Goodness of fit on F ²	0.869
Final R indices [I > 2sigma(I)]	R1 = 0.0386, wR2 = 0.0773
R indices (all data)	R1 = 0.0679, wR2 = 0.0859
Largest diff. peak and hole	0.201 and -0.144 e.Å ⁻³

ACKNOWLEDGMENTS

This work was supported by DGAPA-UNAM Grant IN202010-3. We thank O. H. Rios, L. Velasco, S. E. Huerta, M. M. R. Patiño, and M. A. Peña Gonzalez for technical assistance.

REFERENCES

1. (a) File Jr., T. M. Overview of resistance in the 1990s. *CHEST* **1999**, *115*, 3s; (b) Williams, R. J.; Heyman, D. L. Containment of antibiotic resistance. *Science* **1998**, *279*, 115; (c) Neu, H. C. The crisis in antibiotic resistance. *Science* **1992**, *257*, 1064–1073; (d) Tomasz, A. Multiple-antibiotic-resistant pathogenic bacteria—A report on the Rockefeller University workshop. *New England J. Med.* **1994**, *330*, 1247.
2. Bosca, F.; Cosa, G.; Miranda, M.; Scaiano, J. Inversion of 4-methoxybenzophenone triplet in aqueous solutions. *Photochem. Photobiol. Sci.* **2002**, *1*, 704.
3. Martinez, L. J.; Scaiano, J. C. Transient intermediates in the laser flash photolysis of ketoprofen in aqueous solutions: Unusual photochemistry for the benzophenone chromophore. *J. Am. Chem. Soc.* **1997**, *119*, 11066.
4. Deleu, H.; Maes, A.; Roelandts, R. The relative importance of the components used for ultraviolet A protection in broad-spectrum sunscreens. *Photodermatol. Photoimmunol. Photomed.* **1992**, *9*, 29.
5. Doss, S.; Baghos, V.; Abdelhamid, A.; Halim, M. M. Synthesis of sultam derivatives with expected biological activity. *Molecules* **2000**, *6*, 816.
6. Wyss, D.; Arasappan, A.; Senior, M.; Wang, Y. S.; Beyer, B.; Njoroge, G.; McCoy, M. Non-peptidic small-molecule inhibitors of the single-chain hepatitis C virus NS3 protease/NS4A cofactor complex discovered by structure-based NMR screening. *J. Med. Chem.* **2004**, *47*, 2486.
7. Mahendra, M.; Doreswamy, B.; Sudha, B.; Khanum, S.; Shashikanth, S.; Sridhar, M.; Prasad, J. Synthesis and crystal structure of (3,4-dimethoxy phenyl)-(2-chlorophenyl)-methanone. *Anal. Sci.* **2003**, *19*, X57.
8. Clader, J.; Berger, J.; Burrier, R.; Davis, H.; Domalski, M.; Dugar, S.; Kogan, T.; Salisbury, B.; Vaccaro, W. Substituted (1,2-diarylethyl)amide acyl-CoA:cholesterol acyltransferase inhibitors: Effect of polar group on in vitro and in vivo activity. *J. Med. Chem.* **1995**, *38*, 1600.
9. Sternbach, L. 1,4-Benzodiazepines: Chemistry and some aspects of the structure–activity relationship. *Angew. Chem., Int. Ed. Engl.* **1971**, *10*, 34.
10. Jing-Ping, L.; Chun-Wei, C.; Jeng-Shin, S.; Yung-Ning, Y.; Ching-Fang, Y.; Huan-Yi, T.; Yu-Kang, L.; Yi-Ling, C.; Chung-Ming, C.; Hsing-Pang, H. Synthesis and structure–activity relationship of 2-aminobenzophenone derivatives as antimetabolic agents. *J. Med. Chem.* **2002**, *45*, 2556.
11. Hsing-Pang, H.; Jing-Ping, L.; Ying-Ting, L.; Neeraj, M.; Jang-Yang, C.; Yung-Ning, Y.; Shuenn-Shing, C.; Uan-Kang, T.; Chun-Wei, C.; Tung-Wei, C.; Chi-Hung, L.; Ying-Ying, C.; Chiung-Chiu, W. Structure–activity and crystallographic analysis of benzophenone derivatives the potential anticancer agents. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2003**, *13*, 101.
12. Sternbach, L. H.; Reeder, E.; Keller, O.; Metlesics, W. Quinazolines and 1,4-benzodiazepines, III: Substituted 2-amino-5-phenyl-3H-1,4-benzodiazepine 4-oxides. *J. Org. Chem.* **1961**, *26*, 4488.
13. Cortes-Cortes, E.; Ebromares Martinez, I.; Garcia Mellado, O. Synthesis and spectral properties of 7-chloro-5-[(*o*- and *p*-R₁)phenyl]-1-R₂-3H-[1,4]benzodiazepin-2-ones. *J. Heterocycl. Chem.* **2002**, *39*, 1189.

14. Monks, A.; Scudiero, D.; Skehan, P.; Shoemaker, R.; Paul, K.; Vistica, D.; Hose, C.; Langley, J.; Cronise, P.; Vaigro-Wolff, A.; Gray-Goodrich, M.; Campbell, H.; Mayo, J.; Boyd, M. Feasibility of a high-flux anticancer drug screen using a diverse panel of cultured human tumor cell lines. *J. Nat. Cancer Inst.* **1991**, *38* (11), 757.
15. Sternbach, L. H.; Fryer, R. I.; Metlesics, W.; Reeder, E.; Sach, G.; Saucy, G.; Stempel, A. Quinazolines and 1,4-benzodiazepines, VI: Halo-, methyl-, and methoxy-substituted 1,3-dihydro-5-phenyl-1,4-benzodiazepin-2-ones. *J. Org. Chem.* **1962**, *27*, 3788.

Contents lists available at [SciVerse ScienceDirect](http://SciVerse.ScienceDirect.com)

Bioorganic & Medicinal Chemistry

journal homepage: www.elsevier.com/locate/bmc

Synthesis of 5-aryl-1,4-benzodiazepine derivatives attached in resorcinaren-PAMAM dendrimers and their anti-cancer activity

Sandra Cortez-Maya^a, Simón Hernández-Ortega^a, Teresa Ramírez-Apan^a, Irina V. Lijanova^b, Marcos Martínez-García^{a,*}

^a Instituto de Química, Universidad Nacional Autónoma de México, Ciudad Universitaria, Circuito Exterior, Coyoacán, C.P. 04510, México D.F., Mexico

^b Instituto Politécnico Nacional, CIITEC, Cerrada Cecati S/N, Colonia Santa Catarina de Azcapotzalco, C.P. 02250, México D.F., Mexico

ARTICLE INFO

Article history:

Received 27 August 2011

Revised 17 October 2011

Accepted 23 October 2011

Available online xxxx

Keywords:

Anticancer activity

Benzodiazepines

Resorcinarenes

PAMAM

Dendrimers

ABSTRACT

A series of resorcinaren-PAMAM dendrimers with benzodiazepines in the periphery were synthesized and their anticancer properties studied. The synthesized dendrimers showed potential anticancer activities, which were enhanced in the presence of a chloro-substituent in the second ring of the 5-aryl-1,4-benzodiazepine. The dendrimers were characterized by IR, ¹H and ¹³C NMR, UV-vis absorption, electrospray (ES) and/or MALDI-TOF mass spectrometries.

© 2011 Elsevier Ltd. All rights reserved.

1. Introduction

Dendrimers¹ are synthetic, nanometer-sized macromolecules that can be modified to suit a specific application with unique architecture, given that they have well-defined, compartmentalized structure and narrow polydispersity. They have been extensively investigated as drug delivery carriers^{2–7} due to the presence of nanocompartments that can encapsulate guest molecules.^{8–10} Dendrimers are commercially available, being PAMAM dendrimers the most extensively studied for biological applications.^{11–15} They have a unique architecture based on β-alanine subunits with primary amine groups on the surface that are available for the attachment of several types of biological materials.¹⁶ Their aqueous solubility and biocompatibility are well suited to carry ligands, fluorochromes, and drugs for targeting, imaging,¹⁷ and drug delivery.^{18,19,20} Benzodiazepines represent a large and still expanding group of synthetic heterocyclic derivatives, which have attracted much attention in the field of drugs and pharmaceuticals in the last 30 years. The biological relevance of the benzodiazepine family explains our interest in exploring the anticancer activities of the dendrimers with benzodiazepines. In the present paper, we describe the synthesis of 5-aryl-1,4-benzodiazepines derivatives attached to resorcinaren-PAMAM dendrimers and their anticancer activity.

2. Synthesis

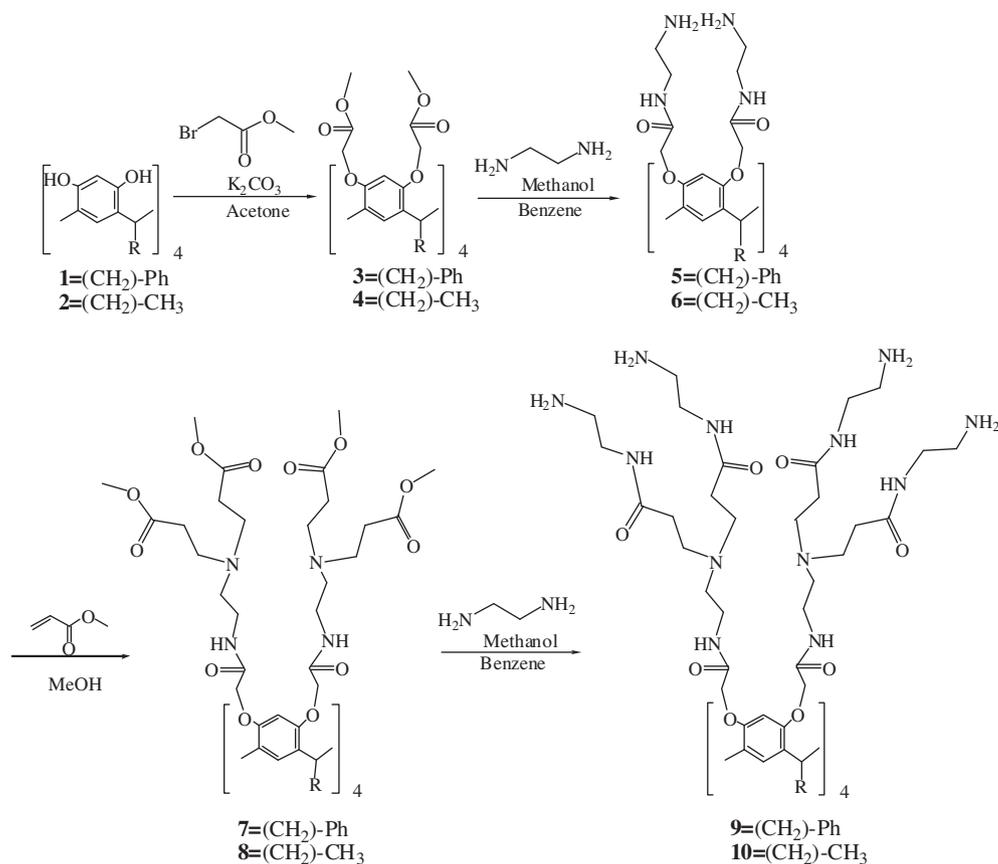
It has been established that the introduction of activated ester groups on the upper rim of resorcinarenes provides an excellent possibility for further chemical modification of resorcinarenes. The ester group of resorcinarenes can be ammonolyzed by diamine to obtain amide derivatives with terminal amino groups. Resorcinarene-core amine dendrimers reacting with esters will introduce a benzodiazepine at the periphery of resorcinarenes. The synthetic routes for the preparation of the first and second generations of dendritic resorcinaren-polyamidoamine and Schiff bases are shown in Scheme 1.

The dendritic core resorcinarenes **1** and **2** were prepared by the reaction of resorcinol with dodecanaldehyde or hydrocinnamaldehyde,²¹ they have eight functionalized phenolic hydroxyl groups, which were primarily fully alkylated with methyl bromoacetate in a K₂CO₃/acetone system to afford active ester derivatives **3**, **4**. Compounds **3** and **4** were used as the starting building blocks for constructing high-generation dendrimers. Refluxing compounds **3** and **4** with a large excess of 1,2-diaminoethane in a mixture of methanol and benzene 1:1 for 24 h gave the corresponding first generation amide dendrimers **5** and **6** containing free terminal amino groups in excellent yields (90% and 88%) (Scheme 1).

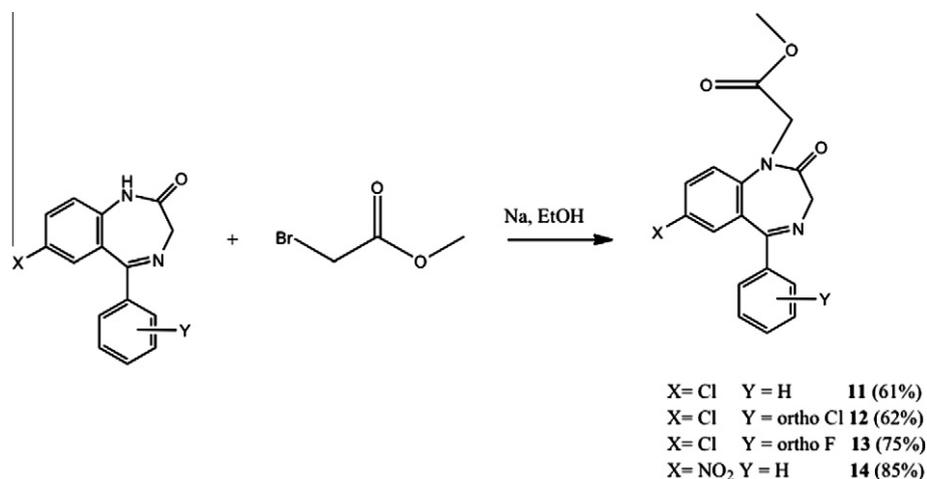
Generation 1.5 was obtained from a mixture of methyl acrylate in MeOH cooled to 0 °C, this was added to compounds **5** or **6** in MeOH cooled to 0 °C. The MeOH and excess of methyl acrylate, as volatiles, were evaporated on a rotary evaporator at 34 °C, and

* Corresponding author. Tel.: +52 5622 4451; fax: +52 5616 22032.

E-mail address: margar@servidor.unam.mx (M. Martínez-García).



Scheme 1. Synthesis of the resorcinaren-PAMAM dendrimers first and second generation.



Scheme 2. Synthesis of the benzodiazepine derivatives.

G-1.5 was dried in vacuum obtaining compounds **7** and **8**. Finally the compounds **7** and **8** were reacted with an excess of 1,2-diaminoethane in a mixture of methanol and benzene 1:1 for 24 h resulting in the corresponding second generation amide dendrimers **9** and **10** (Scheme 1).

It should be pointed out that compounds **5**, **6**, **9** and **10** have good solubility in most organic solvents. In the IR spectra of amides **5** and **6** the absorption band of C=O appears at 1675 cm^{-1} , while the absorption band of C=O in the ester derivatives **3** and **4** appears at 1750 cm^{-1} , which indicates that all the ethyl ester groups were transformed into amide groups.

The 5-aryl-1,4-benzodiazepines (**11–14**) were synthesized in agreement with the literature procedure²² and modified in N1 with $\text{MeO}^- \text{Na}^+$ and methyl bromoacetate (Scheme 2).

The structure of compound (**11**) was confirmed by X-ray diffraction analysis of a single crystal prepared by crystallization from chloroform. The general view of compound (**11**) is shown in Figure 1.

Finally the benzodiazepine derivatives were attached to the resorcinaren-PAMAM dendrimers in methanol/benzene 1:1 at reflux for 3 days, the compounds **19–34** were washed with acetone and methanol to remove the excess of benzodiazepine (Scheme 3).

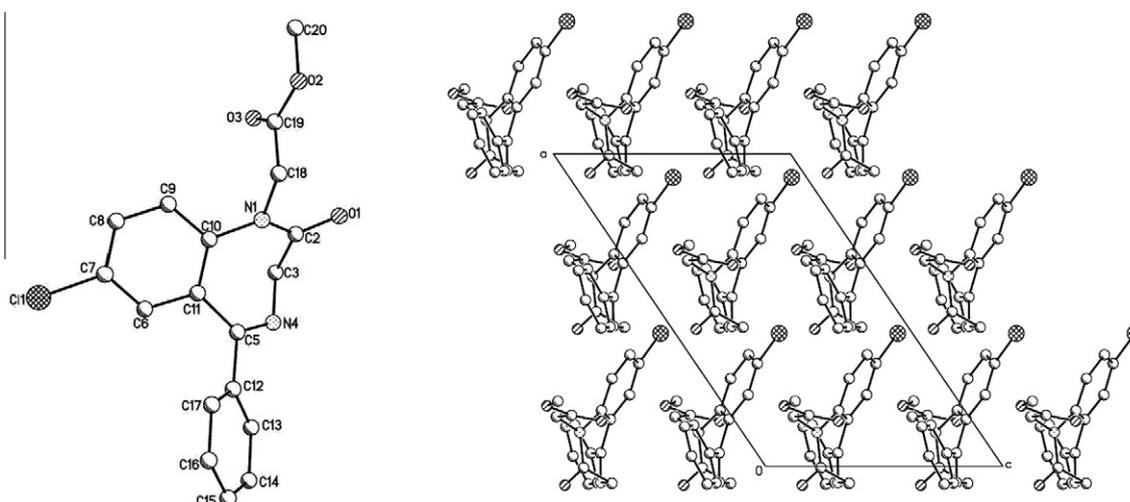
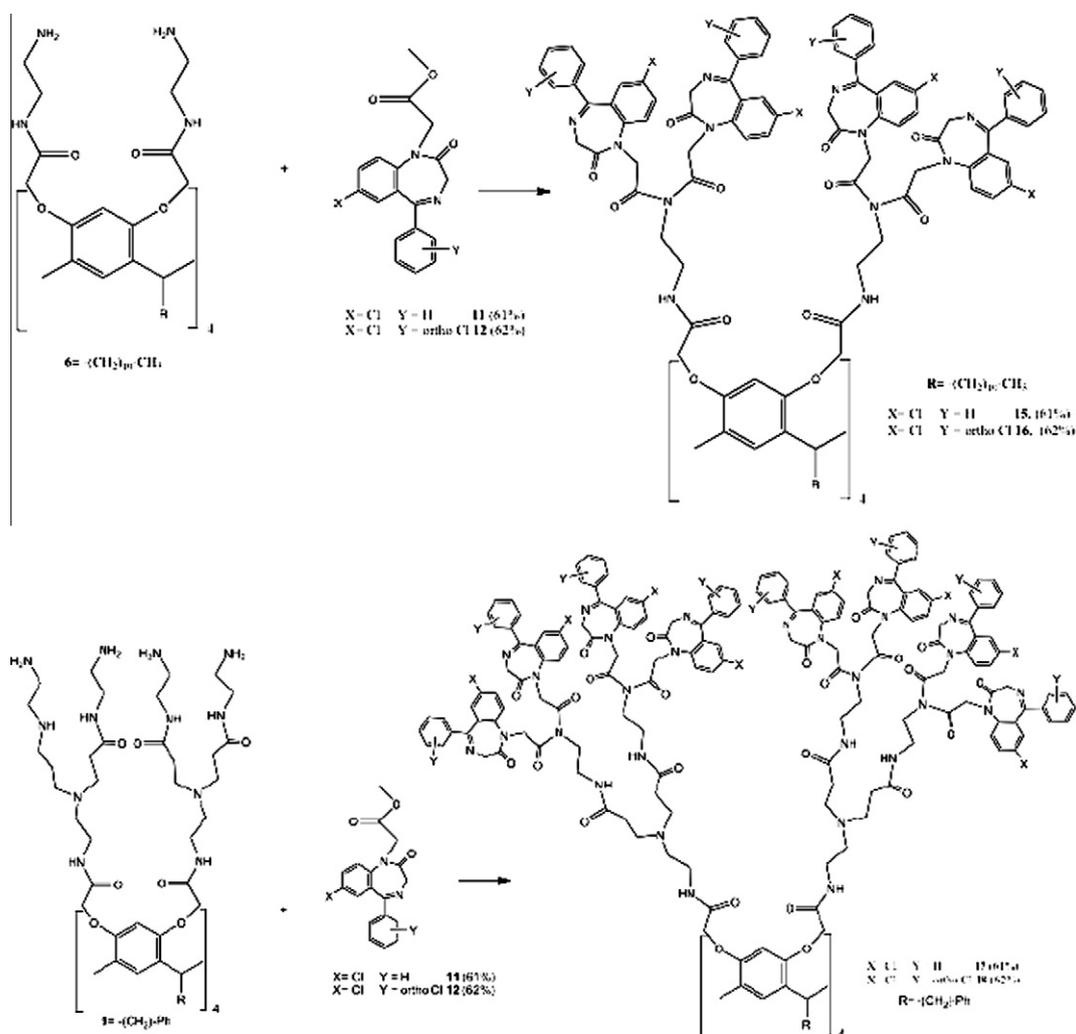


Figure 1. Crystal structure and crystal packing of compound **11**. Selected bond lengths (Å): C(1)–C(7) 1.736(2); N(1)–C(18) 1.458(3); N(1)–C(18) 1.458(3); N(1)–C(2) 1.367(3); C(5)–C(11) 1.486(3); C(5)–C(12) 1.499(3); C(1)–C(7) 1.736(2). Selected bond angles (°): C(11)–C(5)–C(12) 118.83(17); N(4)–C(5)–C(11) 124.53(17); C(2)–N(1)–C(10) 123.91(16); C(2)–N(1)–C(18) 115.44(17).



Scheme 3. Synthesis of resorcinarene-PAMAM with benzodiazepine derivatives in the periphery.

Table 1
Inhibition on the growth (%) of human tumor cell lines for (**1**, **2**, **5**, **6**, **9**, **10–18**) at 50 μ M in DMSO

Cell line	U251	PC-3	K256	HCT-15	MCF-7	SKLU-1
<i>Compound</i>						
1	47.57	5.4	60.78	14.73	21.46	14.85
2	11.80	1.78	17.67	—	8.54	6.01
5	37.00	28.96	35.33	34.91	33.21	30.92
6	18.05	—	11.19	31.54	—	16.24
9	—	—	—	—	—	—
10	56.52	38.54	100	91.27	91.98	100
11	11.72	12.30	19.71	12.0	19.29	13.23
12	18.6	12.83	15.92	12.9	11.8	12.50
13	20.72	22.41	27.23	26.0	24.5	19.8
14	33.72	22.33	30.62	25.2	22.2	27.5

Table 2
Inhibitory concentration (IC_{50}) (μ M) values obtained in PC-3, HCT-15 and SKLU-1 cell lines for compounds (**15–18**) in DMSO

Dendrimers	PC-3	HCT-15	SKLU-1
15	38.54 \pm 4.60	35.43 \pm 2.50	39.71 \pm 2.30
16	15.40 \pm 2.30	18.85 \pm 0.75	15.69 \pm 0.24
17	20.86 \pm 1.60	23.62 \pm 1.90	22.64 \pm 1.00
18	40.84 \pm 1.60	33.52 \pm 1.90	32.44 \pm 1.00
<i>cis-Platin</i>	15.20 \pm 1.40	13.83 \pm 0.70	7.13 \pm 0.20

2.1. Cytotoxic activity

From the series of synthesized compounds, resorcinarenes **1** and **2**, as well as the resorcinaren-dendrimers of first and second generation **5**, **6**, **9**, **10**, were tested for anticancer activity and were screened in vitro against five human cancer cell lines. U251 (human glioblastoma), PC-3 (human prostatic adenocarcinoma), K562 (human chronic myelogenous leukemia cells), HCT-15 (human colorectal adenocarcinoma), MCF-7 (human mammary adenocarcinoma) and SKLU-1 (human lung adenocarcinoma). Cell lines were supplied by the National Cancer Institute (USA). The human tumor cytotoxicity was determined using the protein-binding dye sulforhodamine B (SRB) in microculture assay to measure cell growth, as described in the protocols established by the NCI (Monks et al., 1991).²³ The cell lines were cultured in RPMI-1640 medium supplemented with 10% fetal bovine serum, 2 mM L-glutamine, 10,000 units/ml penicillin G sodium, 10,000 μ g/ml streptomycin sulfate and 25 μ g/ml amphotericin B (Gibco) and 1% non-essential amino acids (Gibco). They were maintained at 37 °C in a humidified atmosphere with 5% CO₂. The viability of the cells used in the experiments exceeds 95% as determined with trypan blue. The initially obtained cytotoxic screening data (Table 1) shows that they have significant anticancer activities, especially compounds **6**, **9**, **11** and **12**, and that their activity depends on the nature of the human cancer cell line.

The inhibitory concentration (IC_{50}) values were only determined for those lines (PC-3, HCT-15 and SKLU-1), for four resorcinaren-PAMAM with benzodiazepine derivatives samples, and were compared to the results obtained with the *cis*-platin cytotoxic agent (Table 2). For the three selected cell lines, the first generation dendrimer **6** and the second generation dendrimer **9** showed good activity and in the case of the benzodiazepine derivatives **11**, **12** showed promising activity as well. The first generation dendrimer with the benzodiazepine attached (**16**) was found to be the most potent among the benzodiazepines studied, exhibiting the lowest inhibitory concentrations (15.40 \pm 2.3, 18.85 \pm 0.75 and 15.69 \pm 0.24 μ M, Table 2). The comparison of the activity of chloro-derivative (dendrimer **16**) with that of the corresponding hydrogen-derivative (dendrimer **15**) indicates that the presence of chloro in the second ring of the benzodiazepines leads to better results in inhibition of cancer cell proliferation.

In the case of the second generation dendrimers **17** and **18**, the dendrimer **18** was the most active.

The results of the present experiments clearly indicate that compounds **15–18** inhibit, in all cell lines, the proliferation of cancer cells. The rank order of potency was: **16** > **17** > **18** > **15**, at the concentration assayed. Dendrimers **16** and **18** emerged as the most promising PC-3, HCT-15 and SKLU-1 inhibitors. In summary, these results reveal that this class of resorcinaren-PAMAM with benzodiazepine derivatives in the periphery gives rise to an inhibitory growth of cancerous cells, although further investigation is warranted to establish the mechanism of inhibitory activity.

3. Conclusions

In the present work it was observed that resorcinaren-PAMAM with benzodiazepine derivatives in the periphery can be obtained in good yields. Biological activity tests showed that the synthesized resorcinaren-PAMAM with benzodiazepine derivatives compounds have potential activity against cancer. Inhibition of cancer cell proliferation was enhanced in the presence of a chloro-substituent in the second ring of the 5-aryl 1,4-benzodiazepines.

4. Experimental section

4.1. Materials and equipments

Solvents and reagents were purchased as reagent grade and used without further purification. Ether and toluene were distilled from sodium and benzophenone, acetone was distilled over calcium chloride, and methanol was distilled over calcium oxide powder. Column chromatography was performed on Merck Silica Gel 60 Å (70–230 mesh). ¹H and ¹³C NMR spectra were recorded on a Varian Unity-300 MHz with tetramethylsilane (TMS) as an internal reference. Infrared (IR) spectra were measured on a Nicolet FT-SSX spectrophotometer. Elemental analysis was determined by Galbraith Laboratories, INC Knoxville.

4.2. General procedure for preparation of dendrimers, generation 0.5

A mixture of the methyl bromoacetate (1 mmol), potassium carbonate (3 mmol) in dry acetone (50 mL) was heated to reflux and stirred vigorously under an N₂ atmosphere for 20 min. The compounds **1** or **2** (0.2 mmol) dissolved in dry acetone (40 mL) were added drop wise and the reaction was continued for 7 days. The mixture was cooled and the precipitate filtered. The filtrate was evaporated to dryness under pressure. The residue dissolved in diethyl ether was washed with an aqueous solution of 5% Na₂CO₃ (three times). The organic layer was dried and evaporated to obtain the esters **3** and **4**.

4.2.1. Compound 3

Yield: 93%. Brown solid. mp: >300 °C. ¹H NMR (300 MHz, CDCl₃) δ _H: 2.20 (br, 8H, CH₂), 2.66 (br, 8H, CH₂), 3.75 (s, 24H, O-CH₃), 4.28 (s, 16H, CH₂-O), 4.72 (t, 4H, CH, *J* = 7.0 Hz), 6.23 (s, 4H, Ar), 6.76 (s, 4H, Ar), 7.06–7.15 (m, 20H, Ar); ¹³C NMR (75 MHz, CDCl₃) δ _C: 34.3 (CH₂), 35.58 (CH₂), 36.7 (CH), 51.9 (O-CH₃), 66.9 (CH₂-O), 100.5 (Ar), 125.4 (Ar), 126.2 (Ar_{*ipso*}), 128.0 (Ar), 128.1 (Ar), 128.3 (Ar), 142.5 (Ar_{*ipso*}), 154.2 (Ar-O), 169.7 (C=O). MS (MALDI-TOF) *m/z*: 1480 (M⁺). Anal. Calcd for C₈₄H₈₈O₂₄: C, 68.10; H, 5.99. Found: C, 68.10; H, 5.97.

4.2.2. Compound 4

Yield: 95%. Brown solid. mp: >300 °C. ¹H NMR: (300 MHz, CDCl₃) δ _H: 0.86 (t, 12H, CH₃, *J* = 6.8 Hz), 1.23 (s, 56H, CH₂), 1.29 (s,

16H, CH₂), 1.83 (m, 8H, CH₂), 3.75 (s, 24H, O–CH₃), 4.27 (s, 16H, CH₂–O), 4.25 (t, 4H, CH, *J* = 7.5 Hz), 6.21 (s, 4H, Ar), 6.61 (s, 4H, Ar); ¹³C NMR (75 MHz, CDCl₃) δ_C: 14.0 (CH₃), 22.6 (CH₂), 28.0 (CH₂), 29.3 (CH₂), 29.6 (CH₂), 29.7 (CH₂), 29.8 (CH₂), 29.9 (CH₂), 31.9 (CH₂), 34.5 (CH), 51.8 (CH₃–O), 67.1 (CH₂–O), 100.8 (Ar), 126.5 (Ar), 128.5 (Ar_{ipso}), 154.4 (Ar–O), 169.7 (C=O). MS (MALDI-TOF) *m/z*: 1681 (M⁺). Anal. Calcd for C₉₆H₁₄₄O₂₄: C, 68.54; H, 8.63. Found: C, 68.52; H, 8.60.

4.3. General procedure for preparation of dendrimers, Generation 1.0 and 2.0

A mixture of ester-containing derivatives **3**, **4**, **7** and **8** (1.0 mmol) and 1,2-diaminoethane (15.0 mL) in ethanol (15 mL) and toluene (15 mL) were refluxed for 24 h in an atmosphere of nitrogen. The organic solvent and the excess 1,2-diaminoethane were removed in vacuo. The residue was washed several times with alcohol to obtain the amide products **5**, **6**, **9** and **10**.

4.3.1. Compound 5

Yield: 90%. Brown solid. mp: >300 °C. ¹H NMR (300 MHz, CDCl₃) δ_H: 1.96 (br, 16H, CH₂), 2.89 (s, 16H, CH₂–NH₂), 3.39 (br, 16H, CH₂–NH), 4.37 (br, 16H, CH₂–O), 4.47 (br, 16H, NH₂), 4.68 (t, 4H, CH, *J* = 7.0 Hz), 6.44 (s, 4H, Ar), 6.51 (s, 4H, Ar), 7.06–7.22 (m, 20H, Ar); ¹³C NMR (75 MHz, CDCl₃) δ_C: 30.9 (CH₂), 34.5 (CH₂), 37.2 (CH), 40.5 (CH₂–NH₂), 41.2 (CH₂–NH), 68.5 (CH₂–O), 101.2 (Ar), 125.7 (Ar), 127.2 (Ar_{ipso}), 128.4 (Ar), 128.6 (Ar), 141.6 (Ar_{ipso}), 147.9 (Ar–O), 162.3 (C=O). MS (MALDI-TOF) *m/z*: 1704 (M⁺). Anal. Calcd for C₉₂H₁₂₀N₁₆O₁₆: C 64.77, H 7.09; N, 13.14. Found: C, 64.74; H, 7.11; N, 13.12.

4.3.2. Compound 6

Yield: 88%. Brown solid. mp: >300 °C. ¹H NMR (200 MHz, CDCl₃) δ_H: 0.86 (t, 12H, CH₃, *J* = 6.2 Hz), 1.21 (br, 72H, CH₂), 1.95 (br, 8H, CH₂), 2.9 (br, 16H, CH₂–NH₂), 3.4 (s, 16H, CH₂–NH), 4.58 (s, 16H, CH₂–O), 4.71 (t, 4H, CH, *J* = 7.0 Hz), 5.89 (br, 4H, NH₂), 6.49 (s, 4H, Ar), 7.25 (s, 4H, Ar); ¹³C NMR (75 MHz, CDCl₃) δ_C: 14.0 (CH₃), 22.6 (CH₂), 29.3 (CH₂), 29.7 (CH₂), 29.8 (CH₂), 31.9 (CH₂), 34.5 (CH), 37.3 (CH₂–NH₂), 41.2 (CH₂–NH), 68.1 (CH₂–O), 99.0 (Ar), 126.8 (Ar), 129.5 (Ar_{ipso}), 154.4 (Ar–O), 168.6 (C=O). MS (MALDI-TOF) *m/z*: 1905 (M⁺). Anal. Calcd for C₁₀₄H₁₇₆N₁₆O₁₆: C, 65.51; H, 9.30; N, 11.75. Found: C, 65.49; H, 9.32; N, 11.72.

4.3.3. Compound 9

Yield: 89%. Brown solid. mp: >300 °C. ¹H NMR (300 MHz, CDCl₃) δ_H: 2.34 (br, 8H, CH₂), 2.59 (br, 16H, CH₂–N), 2.74 (br, 8H, CH₂), 2.97 (s, 32H, CH₂–NH₂), 3.01 (s, 32H, CH₂–NH), 3.10 (br, 32H, N–CH₂), 3.23 (br, 32H, CH₂–C=O), 3.46 (br, 16H, CH₂–NH), 4.44 (br, 16H, CH₂–O), 4.80 (t, 4H, CH, *J* = 7.0 Hz), 6.43 (s, 4H, Ar), 6.50 (s, 4H, Ar), 7.06–7.22 (m, 20H, Ar); ¹³C NMR (75 MHz, CDCl₃) δ_C: 32.2 (N–CH₂), 33.9 (CH₂), 34.4 (CH₂), 37.2 (CH), 40.9 (CH₂–NH), 41.7 (CH₂–NH₂), 43.6 (CH₂–NH), 45.6 (CH₂–N), 52.2 (N–CH₂), 67.2 (CH₂–O), 101.2 (Ar), 125.9 (Ar), 126.7 (Ar_{ipso}), 127.4 (Ar), 128.4 (Ar), 141.8 (Ar_{ipso}), 154.9 (Ar–O), 169.3 (C=O), 173.6 (C=O). MS (MALDI-TOF) *m/z*: 3530 (M⁺). Anal. Calcd for C₁₇₂H₂₈₀N₄₈O₃₂: C, 58.48; H, 7.99; N, 19.03. Found: C, 58.44; H, 7.95; N, 19.92.

4.3.4. Compound 10

Yield: 89%. Brown solid. mp: >300 °C. ¹H NMR (300 MHz, CDCl₃) δ_H: 0.87 (s, 12H, CH₃), 1.23 (s, 80H, CH₂), 2.36 (br, 16H, CH₂–N), 2.77 (br, 32H, CH₂–NH₂), 3.02 (br, 32H, CH₂–NH), 3.27 (br, 32H, CH₂–C=O), 3.36 (br, 16H, CH₂–NH), 4.57 (br, 16H, CH₂–O), 4.71 (t, 4H, CH, *J* = 7.0 Hz), 5.96 (br, 32H, NH₂), 6.37 (s, 4H, Ar), 7.25 (s, 4H, Ar); ¹³C NMR (75 MHz, CDCl₃) δ_C: 14.1 (CH₃), 22.7 (CH₂), 29.5 (CH₂), 29.8 (CH₂), 29.9 (CH₂), 31.2 (CH₂), 34.0 (CH), 37.6 (CH₂–NH), 41.1 (CH₂–NH₂), 41.9 (CH₂–NH), 50.4

(CH₂–N), 52.5 (CH₂–C=O), 68.9 (CH₂–O), 96.4 (Ar), 124.4 (Ar), 127.1 (Ar_{ipso}), 154.7 (Ar–O), 169.2 (C=O), 173.7 (C=O). MS (MALDI-TOF) *m/z*: 3730 (M⁺). Anal. Calcd for C₁₈₄H₃₃₆N₄₈O₃₂: C, 59.20; H, 9.07; N, 18.01. Found: C, 59.23; H 9.10; N, 18.01.

4.4. General procedure for preparation of dendrimers, generation 1.5

A mixture of each of the amides **5** and **6** (0.5 mmol) and methyl acrylate (15 mL) in methanol (15 mL) was stirred in an atmosphere of nitrogen at 45–50 °C for 5 d. Methanol and excessive methyl acrylate were removed in vacuo. The residue was crystallized from alcohol/ether to obtain the ester compounds **7** and **8**.

4.4.1. Compound 7

Yield: 78%. Brown solid. mp: >300 °C. ¹H NMR (300 MHz, CDCl₃) δ_H: 2.04 (s, 8H, CH₂), 2.39 (br, 16H, CH₂–N), 2.57 (s, 8H, CH₂), 2.73 (s, 16H, CH₂–NH), 3.10 (br, 32H, CH₂–C=O), 3.49 (br, 32H, N–CH₂), 3.58 (s, 48H, –OCH₃), 4.42 (br, 16H, CH₂–O), 4.46 (t, 4H, CH, *J* = 7.0 Hz), 5.12 (br, 8H, NH), 6.54 (s, 4H, Ar), 6.67 (s, 4H, Ar), 6.9–7.22 (m, 20H, Ar); ¹³C NMR (75 MHz, CDCl₃) δ_C: 32.1 (CH₂), 32.5 (CH₂), 32.8 (CH₂–C=O), 34.2 (CH), 37.1 (CH₂–NH), 49.2 (N–CH₂–), 51.5 (O–CH₃), 52.7 (CH₂–N), 68.4 (CH₂–O), 101.2 (Ar), 125.0 (Ar), 125.2 (Ar_{ipso}), 128.3 (3–Ar), 141.8 (Ar_{ipso}), 154.2 (Ar–O), 167.9 (C=O, 1), 172.9 (C=O, 2). MS (MALDI-TOF) *m/z*: 3081 (M⁺). Anal. Calcd for C₁₅₆H₂₁₆N₁₆O₄₈: C, 60.77; H, 7.06; N, 7.27. Found: C, 60.78; H, 7.05; N, 7.25.

4.4.2. Compound 8

Yield: 75%. Brown solid. mp: >300 °C. ¹H NMR (300 MHz, CDCl₃) δ_H: 0.83 (t, 12 H, CH₃, *J* = 7.2 Hz), 1.20 (s, 16H, CH₂), 1.25 (s, 40H, CH₂), 1.34 (s, 24H, CH₂), 2.40 (br, 32H, CH₂–C=O), 2.60 (br, 16H, CH₂–N), 2.75 (br, 32H, N–CH₂), 3.50 (br, 16H, CH₂–NH), 3.62 (s, 48H, –OCH₃), 4.5 (br, 16H, CH₂–O), 4.69 (br, 4H, CH), 6.97 (s, 4H, Ar), 7.18 (s, 4H, Ar); ¹³C NMR (75 MHz, CDCl₃) δ_C: 14.1 (CH₃), 22.6 (CH₂), 28.6 (CH₂), 29.4 (CH₂), 29.7 (CH₂), 29.9 (CH₂), 30.3 (CH₂), 31.9 (CH₂–C=O), 32.6 (CH₂), 36.7 (CH₂–NH), 37.2 (CH), 49.3 (N–CH₂), 51.54 (–OCH₃), 52.7 (CH₂–N), 67.9 (CH₂–O), 98.1 (Ar), 125.8 (Ar), 128.3 (Ar_{ipso}), 155.4 (Ar–O), 169.7 (C=O, 1), 173.2 (C=O, 2). MS (MALDI-TOF) *m/z*: 3281 (M⁺). Anal. Calcd for C₁₆₈H₂₇₂N₁₆O₄₈: C, 61.44; H, 8.35; N, 6.82. Found: C, 61.41; H, 8.37; N, 6.84.

4.5. General procedure for preparation of benzodiazepine derivatives

To a solution of 1,4-benzodiazepines **11–14** (7.9 mmol) in 50 mL of anhydrous methanol, NaMeOH (9.8 mmol) was added, the mixture was stirred for 30 min. Afterwards, was cooled at 10 °C and methyl bromoacetate (9.8 mmol) was added, the reaction was stirred for 4 h. The solvent was evaporated under vacuum and the product was chromatographed in a mixture of hexanes/ethyl acetate 6:4.

4.5.1. Methyl-2-(7-chloro-2-oxo-5-phenyl-2,3-dihydro-1*H*-benzo[e][1,4]diazepin-1-yl) acetate **11**

Yield: 58%. White solid. mp: 134–135 °C. ¹H NMR (300 MHz, CDCl₃) δ_H: 3.71 (s, 3H, O–CH₃), 3.87 (d, 1H, CH₂, *J* = 10.8 Hz), 4.55 (s, 2H, CH₂), 4.86 (d, 1H, CH₂, *J* = 10.8 Hz), 7.29 (d, 1H, Ar-9, *J* = 2.4 Hz), 7.43 (s, 1H, Ar-6), 7.44–7.46 (m, 2H, Ar-6', 2'), 7.48–7.50 (m, 1H, Ar-4'), 7.51–7.53 (m, 2H, Ar-5', 3'), 7.64 (d, 1H, Ar-8, *J* = 7.9 Hz); ¹³C NMR (75 MHz, CDCl₃) δ_C: 49.3 (CH₂), 52.6 (O–CH₃), 56.0 (CH₂), 123.0 (Ar-9), 128.5 (Ar-5', 3'), 129.1 (Ar-7), 129.7 (Ar-6', 2'), 130.1 (Ar-6), 130.5 (Ar-5a), 131.0 (Ar-4'), 131.9 (Ar-8), 137.7 (Ar-1'), 141.3 (Ar-9a), 168.9 (C=N), 169.0 (C=O),

169.7 (C=O). MS (IE) m/z : 342 (M^+). Anal. Calcd for $C_{18}H_{15}ClN_2O_3$: C, 63.07; H, 4.41; N, 8.17. Found: C, 63.06; H, 4.40; N, 8.15.

4.5.2. Methyl-2-(7-chloro-5-(2-chlorophenyl)-2-oxo-2,3-dihydro-1H-benzo[e][1,4] diazepin-1-yl)acetate 12

Yield: 64%. White solid. mp: 113–114 °C. 1H NMR: (300 MHz, $CDCl_3$) δ_H : 3.72 (s, 3H, O-CH₃), 4.22 (d, 2H, CH₂, J = 11.5 Hz), 4.6 (s, 2H, CH₂), 7.12 (d, 1H, Ar-9, J = 8.7 Hz), 7.37 (d, 1H, Ar-6, J = 2.4 Hz), 7.42–7.45 (m, 1H, Ar-3'), 7.47–7.49 (m, 1H, Ar-4'), 7.52–7.53 (m, 1H, Ar-5'), 7.55–7.58 (m, 1H, Ar-8), 7.63–7.65 (m, 1H, Ar-6'); ^{13}C NMR (75 MHz, $CDCl_3$) δ_C : 50.1 (CH₂), 52.5 (O-CH₃), 56.8 (CH₂), 122.8 (Ar-9), 127.0 (Ar-5'), 129.0 (Ar-5a), 129.2 (Ar-7), 129.3 (Ar-6), 130.2 (Ar-3'), 131.0 (Ar-4', Ar-6'), 131.9 (Ar-8), 133.2 (Ar-2'), 136.6 (Ar-1'), 138.3 (Ar-9a), 169.4 (C=N), 171.3 (C=O), 173.2 (C=O). MS (IE) m/z : 376 (M^+). Anal. Calcd for $C_{18}H_{14}Cl_2N_2O_3$: C, 57.31; H, 3.74; N, 7.43. Found: C, 57.30; H, 3.73; N, 7.44.

4.5.3. Methyl-2-(7-chloro-5-(2-fluorophenyl)-2-oxo-2,3-dihydro-1H-benzo[e][1,4] diazepin-1-yl)acetate 13

Yield: 70%. Brown solid. mp: 114–115 °C. 1H NMR: (300 MHz, $CDCl_3$) δ_H : 3.76 (s, 3H, O-CH₃), 3.89 (dd, 1H, CH₂, J = 11.8 Hz), 4.53 (s, 2H, CH₂), 4.92 (d, 1H, CH₂, J = 11.8 Hz), 7.05 (d, 1H, Ar-3', J = 0.9 Hz), 7.18 (d, 1H, Ar-9, J = 2.4 Hz), 7.25 (d, 1H, Ar-5', J = 4.6 Hz), 7.43 (s, 1H, Ar-6), 7.45–7.48 (m, 1H, Ar-4'), 7.67 (d, 1H, Ar-8, J = 1.8 Hz), 7.70 (d, 1H, Ar-6', J = 1.8 Hz); ^{13}C NMR (75 MHz, $CDCl_3$) δ_C : 49.7 (CH₂), 52.6 (O-CH₃), 56.5 (CH₂), 116.4 (Ar-3'), 122.8 (Ar-9), 124.5 (Ar-5'), 126.6 (Ar-1'), 126.7 (Ar-5a), 130.4 (Ar-6), 131.3 (Ar-6'), 131.4 (Ar-7), 131.6 (Ar-8), 132.4 (Ar-4'), 140.2 (Ar-9a), 162.15 (Ar-2'), 166.0 (C=N), 168.7 (C=O), 169.1 (C=O). MS (IE) m/z : 360 (M^+). Anal. Calcd for $C_{18}H_{14}ClFN_2O_3$: C, 59.93; H, 3.91; N, 7.76. Found: C, 59.91; H, 3.92; N, 7.75.

4.5.4. Methyl-2-(7-nitro-2-oxo-5-phenyl-2,3-dihydro-1H-benzo[e][1,4]diazepin-1-yl) acetate 14

Yield: 70%. Brown solid. mp: 120–121 °C. 1H NMR: (300 MHz, $CDCl_3$) δ_H : 3.75 (s, 3H, O-CH₃), 4.22 (d, 1H, CH₂, J = 9.4 Hz), 5.28 (s, 2H, CH₂), 6.57 (d, 1H, CH₂, J = 9.4 Hz), 7.14 (d, 1H, Ar-9, J = 2.2 Hz), 7.48–7.50 (m, 2H, Ar-3', 5'), 7.51–7.53 (m, 1H, Ar-4'), 7.53–7.56 (m, 2H, Ar-2', 6'), 8.10 (s, 1H, Ar-6), 8.14 (d, 1H, Ar-8, J = 2.6 Hz); ^{13}C NMR (75 MHz, $CDCl_3$) δ_C : 49.7 (CH₂), 52.6 (O-CH₃), 56.5 (CH₂), 116.4 (Ar-3'), 122.8 (Ar-9), 124.5 (Ar-5'), 126.6 (Ar-1'), 126.7 (Ar-5a), 130.4 (Ar-6), 131.3 (Ar-6'), 131.4 (Ar-7), 131.6 (Ar-8), 132.4 (Ar-4'), 140.2 (Ar-9a), 162.15 (Ar-2'), 166.0 (C=N), 168.7 (C=O), 169.1 (C=O). MS (IE) m/z : 353 (M^+). Anal. Calcd for $C_{18}H_{15}N_3O_5$: C, 61.19; H, 4.28; N, 11.89. Found: C, 61.17; H, 4.27; N, 11.87.

4.6. Dendrimers with benzodiazepines in the periphery

To a solution of dendrimers **5**, **6**, **9** and **10** (0.5 mmol) in methanol (15 mL), the benzodiazepine ester **11–14** (0.5 mmol) in methanol (15 mL) were added, the mixture was stirred in an atmosphere of nitrogen at 45–50 °C for 5 d. The methanol was removed in vacuo. The residue was washed several times with methanol, after with CH_2Cl_2 to obtain desired products **15–18**.

4.6.1. First generation

4.6.1.1. Dendrimer 15. Yield: 84%. White solid. mp: >300 °C. 1H NMR: (300 MHz, $CDCl_3$) δ_H : 0.82 (s, 12H, CH₃), 1.03 (s, 40H, CH₂), 1.25 (s, 40H, CH₂), 3.21 (br, 16H, CH₂-NH), 3.38 (br, 16H, CH₂-N), 3.70 (s, 16H, CH₂-O), 3.9 (d, 16H, CH₂, Bz, J = 10.8 Hz), 4.6 (d, 32H, CH₂, Bz, J = 4.8 Hz), 4.8 (d, 16H, CH₂, Bz, J = 10.8 Hz), 7.09 (br, 4H, Ar), 7.14 (br, 4H, Ar), 7.26 (d, 16H, Ar-9 Bz, J = 2.4 Hz), 7.32–7.35 (m, Ar-2',6' Bz), 7.41–7.45 (m, 16H, Ar-3',5' Bz), 7.49–7.51 (m, 16H, Ar-4' Bz), 7.53–7.56 (m, 16H, Ar-6 Bz), 7.58–7.60 (m, 16H, Ar-8 Bz); ^{13}C NMR (75 MHz, $CDCl_3$) δ_C : 14.1 (CH₃), 22.8

(CH₂), 29.5 (CH₂), 29.8 (CH₂), 29.9 (CH₂), 30.2 (CH₂), 32.1 (CH₂), 34.7 (CH), 37.2 (CH₂-NH), 40.1 (CH₂-N), 52.9 (CH₂ Bz), 56.6 (CH₂ Bz), 67.5 (CH₂-O), 123.8 (Ar, Ar-9 Bz), 126.3 (Ar-*ipso*, Ar-5a Bz), 128.4 (Ar-6 Bz), 128.6 (Ar-3',5' Bz), 128.7 (Ar-2',6' Bz), 128.9 (Ar-7 Bz), 130.6 (Ar-8 Bz), 131.3 (Ar-4' Bz), 138.4 (Ar-1'), 141.6 (Ar-O), 142.5 (Ar-9a Bz), 169.6 (C=N, C=O Bz), 169.8 (C=O Bz), 169.9 (C=O). MS (MALDI-TOF) m/z : 6903.17 (M+Na). Anal. Calcd for $C_{376}H_{352}Cl_{16}N_{48}O_{48}$: C, 65.66; H, 5.16; N, 9.77. Found: C, 60.68; H, 5.17; N, 9.76.

4.6.1.2. Dendrimer 16. Yield: 84%. White solid. mp: >300 °C. 1H NMR: (300 MHz, $CDCl_3$) δ_H : 0.88 (t, 12H, CH₃, J = 6.2 Hz), 1.25 (br, 72H, CH₂), 1.95 (br, 8H, CH₂), 3.02 (br, 16H, CH₂-NH), 3.54 (s, 16H, CH₂-N), 3.86 (d, 16H, CH₂ Bz, J = 10.9 Hz), 4.35 (s, 16H, CH₂-O), 4.63 (s, 32H, CH₂ Bz), 4.80 (d, 16H, CH₂ Bz, J = 10.9 Hz), 6.25 (s, 4H, Ar), 6.84 (s, 4H, Ar), 7.14 (d, 16H, Ar-9 Bz, J = 8.7 Hz), 7.37 (d, 16H, Ar-6 Bz, J = 2.4 Hz), 7.45–7.49 (m, 16H, Ar-3' Bz), 7.52–7.56 (m, 16H, Ar-4' Bz), 7.57–7.59 (m, 16H, Ar-5' Bz), 7.63–7.66 (m, 16H, Ar-8 Bz), 7.70–7.72 (m, 16H, Ar-6' Bz); ^{13}C NMR (75 MHz, $CDCl_3$) δ_C : 14.1 (CH₃), 22.7 (CH₂), 29.4 (CH₂), 29.7 (CH₂), 29.8 (CH₂), 31.9 (CH₂), 34.5 (CH), 36.1 (CH₂-NH), 40.9 (CH₂-N), 52.3 (CH₂ Bz), 57.1 (CH₂ Bz), 67.4 (CH₂-O), 98.2 (Ar), 122.8 (Ar-9), 125.5 (Ar), 126.6 (Ar-5a), 127.0 (Ar-5'), 127.8 (Ar-*ipso*), 129.2 (Ar-7), 129.4 (Ar-6), 130.1 (Ar-3'), 131.0 (Ar-4', Ar-6'), 131.4 (Ar-8), 133.2 (Ar-2'), 137.4 (Ar-1'), 138.3 (Ar-9a), 156.4 (Ar-O), 167.2 (C=N, C=O Bz), 168.3 (C=O), 169.3 (C=O). MS (MALDI-TOF) m/z : 7411.55 (M+). Anal. Calcd for $C_{376}H_{336}Cl_{32}N_{48}O_{48}$: C, 60.79; H, 4.56; N, 9.05. Found: C, 60.78; H, 4.55; N, 9.05.

4.6.2. Second generation

4.6.2.1. Dendrimer 17. Yield: 89%. Brown solid. mp: >300 °C. 1H NMR: (300 MHz, $CDCl_3$) δ_H : 2.38 (br, 8H, CH₂), 2.61 (br, 8H, CH₂), 2.8 (br, 16H, CH₂-N), 3.05 (s, 32H, CH₂-NH), 3.12 (s, 32H, CH₂-NH), 3.20 (br, 32H, CH₂-C=O), 3.41 (br, 32H, CH₂-NH), 3.9 (d, 32H, CH₂, J = 10.8 Hz), 4.54 (br, 16H, CH₂-O), 4.60 (d, 64H, CH₂-Bz, J = 4.8 Hz), 4.77 (d, 32H, CH₂, J = 10.8 Hz), 4.80 (t, 4H, CH, J = 7.0 Hz), 6.43 (s, 4H, Ar), 6.50 (s, 4H, Ar), 7.10–7.20 (m, 20H, Ar), 7.27 (d, 1H, Ar-9 Bz, J = 2.4 Hz), 7.33 (s, 2H, Ar-6',2' Bz), 7.36 (s, 1H, Ar-5',3' Bz), 7.45–7.50 (m, 2H, Ar-4' Bz), 7.54 (d, 1H, Ar-6 Bz, J = 2.4 Hz), 7.60 (d, 1H, Ar-8 Bz, J = 6.9 Hz); ^{13}C NMR (75 MHz, $CDCl_3$) δ_C : 29.8 (CH₂), 29.9 (CH₂), 34.5 (CH), 37.8 (CH₂-NH), 40.1 (CH₂-N), 52.8 (CH₂-Bz, CH₂-N), 56.4 (CH₂-C=O, CH₂-Bz), 67.2 (CH₂-O), 101.2 (Ar), 123.2 (Ar-9 Bz), 123.5 (Ar), 126.1 (Ar-5a, Bz), 128.5 (Ar), 128.8 (Ar), 129.8 (Ar-5',3'-Bz), 130.4 (Ar-6',2',4'-Bz), 130.8 (Ar-7-Bz), 131.2 (Ar-*ipso*), 131.3 (Ar-6 Bz), 132.4 (Ar-8 Bz), 138.3 (Ar-1' Bz), 141.4 (Ar-*ipso*), 142.3 (Ar-9a, Bz), 157.9 (Ar-O), 169.5 (C=O, Bz, C=N), 169.7 (C=O, 2, Bz), 170.1 (C=O, 1). MS (MALDI-TOF) m/z : 13,442.95 (M+). Anal. Calcd for $C_{716}H_{632}Cl_{32}N_{112}NaO_{96}$: C, 63.71; H, 4.72; N, 11.62. Found: C, 63.68; H, 4.69; N, 11.59.

4.6.2.2. Dendrimer 18. Yield: 87%. White solid. mp: >300 °C. 1H NMR: (300 MHz, $CDCl_3$) δ_H : 2.38 (br, 8H, CH₂), 2.61 (br, 8H, CH₂), 2.25 (br, 16H, CH₂-N), 2.77 (br, 32H, CH₂-C=O), 2.92 (br, 32H, N-CH₂), 3.29 (br, 48H, CH₂-NH), 3.27 (br, 32H, CH₂-N), 3.77 (d, 32H, CH₂ Bz, J = 10.8 Hz), 4.49 (br, 16H, CH₂-O), 4.44 (d, 32H, CH₂, Bz, J = 3.3 Hz), 4.72 (d, 64 H, CH₂ Bz, J = 10.8 Hz), 6.43 (s, 4H, Ar), 6.50 (s, 4H, Ar), 7.10–7.20 (m, 20H, Ar), 7.29–7.41 (m, 16H, Ar-2', Ar-6', Bz), 7.18 (d, 32H, Ar-9, Bz, J = 3.3 Hz), 7.48 (d, 32H, Ar-6, Bz, J = 1.8 Hz), 7.51 (s, 32H, Ar-8, Bz); ^{13}C NMR (75 MHz, $CDCl_3$) δ_C : 14.3 (CH₃), 22.8 (CH₂), 29.5 (CH₂), 29.8 (CH₂), 29.9 (CH₂), 30.2 (CH₂), 32.1 (CH₂), 34.0 (CH), 49.0 (CH₂-C=O), 49.3 (CH₂-NH), 49.5 (CH), 49.8 (CH₂-NH), 50.2 (CH₂-N), 50.5 (CH₂-N), 52.7 (N-CH₂, CH₂-Bz), 56.4 (CH₂-Bz), 56.7 (CH₂-O), 96.4 (Ar), 122.6 (Ar-*ipso*), 123.0 (Ar, Ar-9 Bz), 128.6 (Ar-3',5' Bz), 129.6 (Ar-6 Bz), 130.2 (Ar-2',6' Bz), 130.4 (Ar-7 Bz), 131.0 (Ar-8 Bz), 131.9 (Ar-4' Bz), 138.1 (Ar-1' Bz), 142.8 (Ar-9a Bz), 169.2 (C=N, C=O Bz), 169.4 (C=O, 3,

2), 169.9 (C=O, 1). MS (ES) m/z : 14561.70 (Na⁺). Anal. Calcd for C₇₁₆H₆₀₀Cl₆₄N₁₁₂NaO₉₆: C, 58.90; H, 4.14; N, 10.74. Found: C, 58.93; H, 4.18; N, 10.76.

4.7. Crystal structure determination

A suitable crystal of compound **11** (obtained by crystallization from CHCl₃ at room temperature) was rolled in epoxy resin and mounted on a glass fiber. Bruker Apex AXS CCD area detector X-ray diffractometer was the instrument used for determination. The data were first reduced and corrected for absorption using psi-scans, and then solved using the program SHELL-XS. All non-hydrogen atoms were refined using the anisotropic thermal parameters and the hydrogen atoms were refined at calculated positions applying thermal parameters constrained to the carbon atom on which they were attached. CCDC 848697 contains the supplementary crystallographic data for this paper. These data can be obtained free of charge via www.ccdc.cam.ac.uk/conts/retrieving.html (or from the CCDC, 12 Union Road, Cambridge CB2 1EZ, UK; fax: +44 1223 336033; (e-mail: deposit@ccdc.cam.ac.uk)

Acknowledgments

This work was supported by DGAPA-UNAM (IN202010-3) grant. We would also like to thank O. H. Rios, L. Velasco, S. E. Huerta, M. M. R. Patiño, M. A. Peña Gonzalez for technical assistance.

References and notes

- Esfand, R.; Tomalia, D. A. *Drug Discovery Today* **2001**, 6, 427.
- Calabretta, M. K.; Kumar, A.; McDermott, A. M.; Cai, C. *Biomacromolecules* **2007**, 8, 1807.
- Patri, A. K.; Majoros, I. J.; Baker, J. R., Jr. *Curr. Opin. Chem. Biol.* **2002**, 6, 466.
- Gupta, U.; Agashe, H. B.; Asthana, A.; Jain, N. K. *Biomacromolecules* **2006**, 7, 649.
- Gillies, E. R.; Fréchet, J. M. J. *Drug Discovery Today* **2005**, 10, 35.
- Majoros, I. J.; Myc, A.; Thomas, T.; Chandan, B. M.; Baker, J. R., Jr. *Biomacromolecules* **2006**, 7, 572.
- Boas, U.; Heegaard, P. M. H. *Chem. Soc. Rev.* **2004**, 33, 43.
- Fréchet, J. M. J.; Tomalia, D. A. *Dendrimers and Other Dendritic Polymers*; Wiley: West Sussex, England, 2001.
- Newcome, G. R.; Moorefield, C. N.; Vogtle, F. *Dendrimers and Dendrons: Concepts, Syntheses, Applications*; VCH: Weinheim, Germany, 1996.
- Bosman, A. W.; Janssen, H. M.; Meijer, E. W. *Chem. Rev.* **1999**, 99, 1665.
- Pan, G.; Lemmouchi, Y.; Akala, E. O.; Bakare, O. J. *Bioact. Compat. Polym.* **2005**, 20, 113.
- Newcome, G. R.; Moorefield, C. N.; Vogtle, F.; *Dendrimers, Dendrons. Concepts, Syntheses, Applications*; Wiley-VCH: Weinheim, Germany, 2001.
- Fréchet, J. M. J.; Tomalia, D. A. *Dendrimers and Other Dendritic Polymers*; Wiley: Chichester, UK, 2002.
- Patri, A. K.; Majoros, I.; Baker, J. R., Jr. *Curr. Opin. Chem. Biol.* **2002**, 6, 466.
- Cloninger, M. J. *Curr. Opin. Chem. Biol.* **2002**, 6, 742.
- Singh, P. *Bioconjugate Chem.* **1998**, 9, 54.
- Wu, C.; Brechbiel, M. W.; Kozak, R. W.; Gansow, O. A. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **1994**, 4, 449.
- Kojima, C.; Kono, K.; Maruyama, K.; Takagishi, T. *Bioconjugate Chem.* **2000**, 11, 910.
- Quintana, A.; Raczka, E.; Piehler, L.; Lee, I.; Myc, A.; Majoros, I.; Patri, A. K.; Thomas, T.; Mule, J.; Baker, J. R. *Pharm. Res.* **2002**, 19, 1310.
- Baker, J. R.; Quintana, A.; Piehler, L. T.; Banazak-Holl, M.; Tomalia, D.; Raczka, E. *Biomed. Microdevices* **2001**, 3, 61.
- García, M. A.; Hernandez, O. S.; Klimova, E.; Klimova, T.; Perez, P. B.; Romero, A. M.; Martinez, G. M. *Full. Nanotub. Carbon Nanostruct.* **2005**, 13, 171.
- Cortés, C. E.; Ebromares, M. I.; García, M. O. J. *Heterocycl. Chem.* **2002**, 39, 1189.
- Monks, A.; Scudiero, D.; Skehan, P.; Shoemaker, R.; Paul, K.; Vistica, D.; Hose, C.; Langley, J.; Cronise, P.; Vaigro-Wolff, A.; Gray-Goodrich, M.; Campbell, H.; Mayo, J.; Boyd, M. J. *Natl. Cancer Inst.* **1991**, 83, 757.