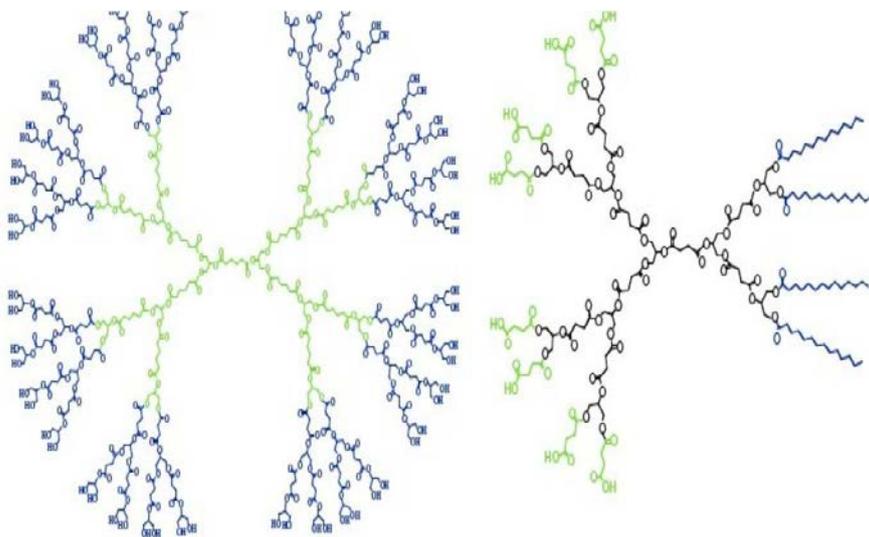




TRABAJO FIN DE GRADO

Los dendrímeros y la química click Empleo en VIH



Ikrame Ghazzali

SEVILLA 19 DE SEPTIEMBRE 2016



UNIVERSIDAD DE SEVILLA
FACULTAD DE FARMACIA
DEPARTAMENTO DE QUÍMICA ORGÁNICA Y
FARMACÉUTICA

TRABAJO FIN DE GRADO

TÍTULO: LOS DENDRÍMEROS Y LA QUÍMICA CLICK. EMPLEO EN VIH
PROYECTO TIPO REVISIÓN

IKRAME GHAZZALI

Comisión 7

Aula 2.1

19 septiembre 2016

TUTORES: MANUEL BUENO MARTÍNEZ e INMACULADA MOLINA PINILLA

ÍNDICE DE ABREVIATURAS

AAC:	Cicloadición azida-alquino
ARV:	Antirretroviral
BAPA:	Bis(3-aminopropil)amina
BBBD:	But-2-inodioato de bis(bromopropilo)
CuAAC:	Cicloadición azida-alquino catalizada por cobre (I)
DCC:	Diciclohexilcarbodiimida
DCM:	Diclorometano
DMAP:	4-dimetilaminopiridina
DPC:	Dendrímeros polianiónicos de tipo carbosilano
DTT:	Ditiotreitol
Gx:	Generación x
MRV:	Maraviroc
TFV:	Tenofovir
PAMAM:	Poliamidoamina
PPI:	Polipropilenimina
pTSA:	Ácido p-toluenosulfónico
SPAAC:	Cicloadición azida-alquino promovida por tensión anular
TARGA:	Terapia Antirretroviral de Gran Actividad
TEA:	Trietanolamina
VIH:	Virus de la inmunodeficiencia humana

ÍNDICE DE FIGURAS

FIGURA 1. Diferentes componentes estructurales del dendrímero.	6
FIGURA 2. Distribución de las publicaciones conteniendo la palabra clave "dendrimers" en el periodo 1985-2015.	8
FIGURA 3. Número de publicaciones que contienen la palabra clave "dendrimers" en los últimos 30 años.	9
FIGURA 4. Representación esquemática de diferentes tipos de polímeros dendríticos y macromoléculas híbridas dendríticas-lineales.	10
FIGURA 5. Representación de los métodos divergente y convergente de síntesis de dendrímeros.	12
FIGURA 6. Ejemplos de la química "click"	14
FIGURA 7. Versión clásica no catalítica y versión catalizada por Cu (I) de la cicloadición 1,3-dipolar de azidas y alquinos.	14
FIGURA 8. Síntesis convergente de un dendrímero conteniendo triazol empleando la química "click".	16
FIGURA 9. Síntesis del dendrímero 7a.	17
FIGURA 10. Síntesis del núcleo y del monómero empleados en la síntesis del dendrímero $(N_3)_{16}$ -[G-3]	17
FIGURA 11. Síntesis de $(N_3)_{16}$ -[G-3]	19
FIGURA 12. Reacción de un derivado de ciclooctino y azida en ausencia de catalizador.	20
FIGURA 13. (a) Síntesis de PAMAM G-5 conteniendo 20 ligandos ciclooctinos. (b) γ -Azido metotrexato 8 . (c) Reacción SPAAC entre PAMAM modificado y 8	22
FIGURA 14. Reacción entre el ácido acetilénodicarboxílico y 3-bromopropanol.	23
FIGURA 15. Síntesis AAC de dendrímeros terminados en bromo o en azidas.	24
FIGURA 16. Preparación de los monómeros AB_2 y CD_2	25
FIGURA 17. Síntesis de un dendrímero G-6	26
FIGURA 18. Dendrímeros conteniendo 9 residuos de triptófano en la periferia.	28
FIGURA 19. Dendrímeros estudiados como microbicidas	30
FIGURA 20. Síntesis general de los dendrímeros de tipo carbosilano	30

ÍNDICE

ÍNDICE DE ABREVIATURAS	2
ÍNDICE DE FIGURAS	3
ÍNDICE.....	4
RESUMEN	5
1. INTRODUCCIÓN	6
2. OBJETIVOS.....	7
3. METODOLOGÍA	8
3.1. Fuentes	8
3.2. Palabras claves	8
3.3. Estadísticas.....	8
4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	9
4.1. ESTRATEGIAS GENERALES DE SÍNTESIS DE DENDRÍMEROS.....	11
4.1.1. Método divergente.....	12
4.1.2. Método convergente.....	13
4.2. QUÍMICA “CLICK”	13
4.2.1. Introducción	13
4.2.1.1. Cicloadición azida-alquino (AAC).....	14
4.2.2. Química click “AAC” y síntesis de dendrímeros.....	15
4.2.2.1. Cicloadición azida-alquino promovida por tensión anular (SPAAC) ...	19
4.2.2.2. Otras reacciones AAC sin catalizador metálico	22
4.2.2.3. Reacción tiol-eno	24
4.3. Dendrímeros y VIH	27
4.3.1. VIH y SIDA: Aspectos generales.....	27
4.3.2. Dendrímeros de triptófano como inhibidores del proceso replicación del VIH.....	27
4.3.3. Dendrímeros polianiónicos de tipo carboxilano como potenciales microbicidas frente al VIH	29
5. CONCLUSIONES	33
6. BIBLIOGRAFÍA.....	34

RESUMEN

En el presente trabajo fin de grado se presenta una revisión bibliográfica de la investigación llevada a cabo en el campo de los dendrímeros en los últimos 10 años. Los dendrímeros son macromoléculas tridimensionales de tamaño nanométrico, que presentan una estructura bien definida, simétrica y monodispersa. Algunos de ellos están actualmente comercializados, o bien se encuentran en proceso, y en general pueden usarse en áreas muy diversas tales como la administración de fármacos como transportadores macromoleculares, catálisis, sensores, ingeniería de superficies y materiales biomiméticos. En la presente memoria, además de estudiar las estrategias sintéticas clásicas para su preparación, se comenta el empleo que, en la actualidad, se está realizando de la llamada “química click” para la síntesis de este tipo de macromolécula. Por último, se presenta el uso y aplicaciones de algunos dendrímeros, obtenidos tanto por técnicas convencionales como por química “clic”, en el síndrome de inmunodeficiencia humana.

Palabras claves: Dendrimer, click, HIV.

1. INTRODUCCIÓN

En general, los dendrímeros son considerados como la cuarta clase de polímeros, tras los lineales, reticulados y estructuras ramificadas (Tomalia, 2005). Son macromoléculas tridimensionales, nanométricas, a menudo radialmente simétricas con una arquitectura bien definida y monodispersas. Los dendrímeros presentan una estructura en ramas con forma de árbol (dendritas) construidos en torno a una unidad central. Su tamaño está medido en generaciones (G) basándose en la estructura capa a capa que caracteriza su síntesis (Figura 1).

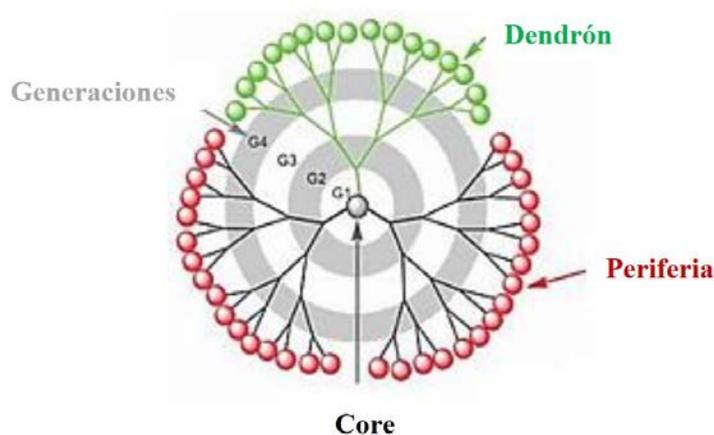


Figura 1. Diferentes componentes estructurales del dendrímero.

Los materiales dendríticos se pueden dividir en varias subclases: (1) polímeros hiperramificados al azar, (2) polímeros arborescentes ("Dendrigraft") o estructuras dendríticas insertadas, (3) dendrones, (4) dendrímeros y (5) tecto(dendrímeros) o megámeros (Tomalia y Fréchet, 2002).

El término "dendrímero" fue propuesto a principios de 1985 por Tomalia (Tomalia y cols., 1985) y proviene del término griego "dendra" que significa árbol. Otros términos sinónimos son "arborol", propuesto por Newkome (Newkome y cols., 1985), derivado del término griego "arbor" que significa rama, o moléculas "cascada" utilizado por Vögtle (Buhleier y cols., 1978).

Los polímeros dendríticos altamente ramificados, presentan propiedades muy diferentes en comparación con sus análogos lineales. La presencia de una estructura altamente ramificada da a estos polímeros propiedades únicas, y se prevé que van a encontrar su uso en aplicaciones especializadas, por ejemplo; administración dirigida de

fármacos, portadores macromoleculares, sensores, captadores de luz, ingeniería de superficies y aplicaciones biomiméticas (Fréchet y Tomalia, 2001); (Bosman y cols., 1999); (Dykes, 2001).

En la actualidad, y en lo referente a aplicaciones en medicina, estos polímeros no tienen gran importancia en clínica a pesar del enorme esfuerzo realizado en investigación en éste ámbito concreto. Sus aplicaciones comerciales se limitan mayoritariamente a las aplicaciones *in vitro*. Hay dos ejemplos para aplicaciones médicas *in vivo* de los dendrímeros. OcuSeals es un hidrogel dendrímico en forma líquida elaborado por el laboratorio de Beaver-Visitec Internacional, se usa como vendaje ocular líquido para proporcionar una barrera con el fin de poder estabilizar las heridas oculares causadas por afecciones oculares o por un trauma de origen quirúrgico o no quirúrgico (Kenyon y cols., 2014). La otra aplicación se refiere a “VivaGels”, un dendrímico de poli(lisina) conteniendo 32 unidades de naftaleno disulfonato en su superficie. Está en evaluación clínica como un ingrediente activo como gel microbicida vaginal y como recubrimiento en condones (Starpharma Holdings Ltd, 2016).

Aun así, las estructuras poliméricas complejas, incluyendo los materiales dendríticos, no se comercializan a gran escala por la industria, ya que en la mayoría de los casos son difíciles de sintetizar, y requieren por tanto elevados costes de producción.

Las metodologías de síntesis de polímeros dendríticos deben mejorarse si se quiere lograr su comercialización. Los recientes avances sintéticos logrados en el campo de la química orgánica y de los polímeros están proporcionando a los investigadores nuevas herramientas para elaborar estas complejas estructuras de forma más eficiente.

2. OBJETIVOS

El objetivo de este trabajo es conocer la situación actual en la que se encuentra la investigación dedicada al estudio de la química de dendrímeros, y la repercusión a nivel comercial que tienen este tipo de macromoléculas en sus aplicaciones en el campo de la biomedicina, y en particular los orientados a la prevención y tratamiento de la infección por el VIH.

3. METODOLOGÍA

3.1. Fuentes

Para la realización del presente trabajo se han consultado las siguientes fuentes de información:

-Base de datos: Scifinder.

-Página web de la universidad de Sevilla. Catálogo FAMA y revistas electrónicas.

3.2. Palabras claves

Las palabras clave empleadas en la búsqueda de la información han sido: dendrimer, click y HIV.

3.3. Estadísticas

La búsqueda bibliográfica se realizó a través de SciFinder Scholar® en mayo de 2016 y en ella se incluyen artículos de revistas, patentes, y revisiones bibliográficas. El número de total de trabajos encontrados fue de 38973, siendo la distribución de las publicaciones según el tipo documento el mostrado en la Tabla 1, y representado en la Figura 2.

Patentes	6.066
Revisiones	4.689
Revistas	25.033
Otros	3185

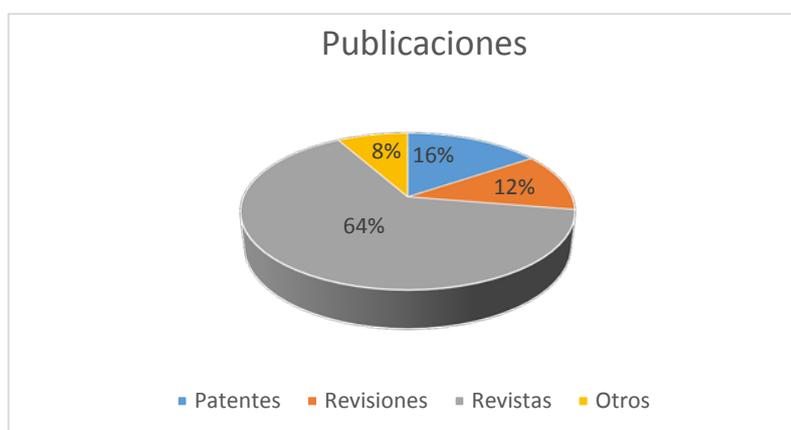


Figura 2. Distribución de las publicaciones conteniendo la palabra clave "dendrimers" en el periodo 1985-2015.

En la Figura 3 se muestran los resultados encontrados, agrupados en periodos de investigación de cinco años.

Tabla 2	
Periodo	Publicaciones
1985-1990	66
1990-1995	658
1995-2000	3.917
2000-2005	9.544
2005-2010	14.437
2010-2015	16.629

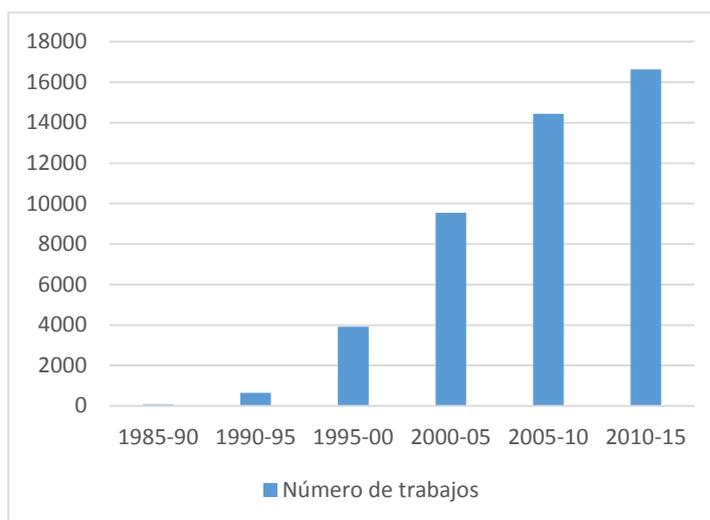


Figura 3. Número de publicaciones que contienen la palabra clave "dendrimers" en los últimos 30 años.

De los 38973 trabajos encontrados, 983 artículos se dedican al estudio de dendrímeros preparados por química "click" y 467 son artículos en los que se relaciona los dendrímeros y el HIV.

4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Las estructuras dendríticas pueden ser divididas en varios subgrupos con una variedad muy grande de estructuras y tamaños posibles (Figura 4). A continuación, resumimos y describimos algunos de los grupos más importantes dentro de dicha familia.

Los dendrímeros (Figura 4a) están formados por:

- Un núcleo que determina el tamaño, forma, dirección y multiplicidad.
- Una zona intermedia, formadas por las ramificaciones.
- La periferia, donde se encuentran los grupos funcionales.

Cada una de las capas que separa al núcleo de la periferia se conoce como generación de la estructura dendrítica. Los dendrones (Figura 4b), cuya síntesis se realiza paso a paso, son moléculas ramificadas monodispersas con diferentes grupos funcionales en el núcleo y en la periferia. En el último paso de la síntesis se unen para formar los dendrímeros.

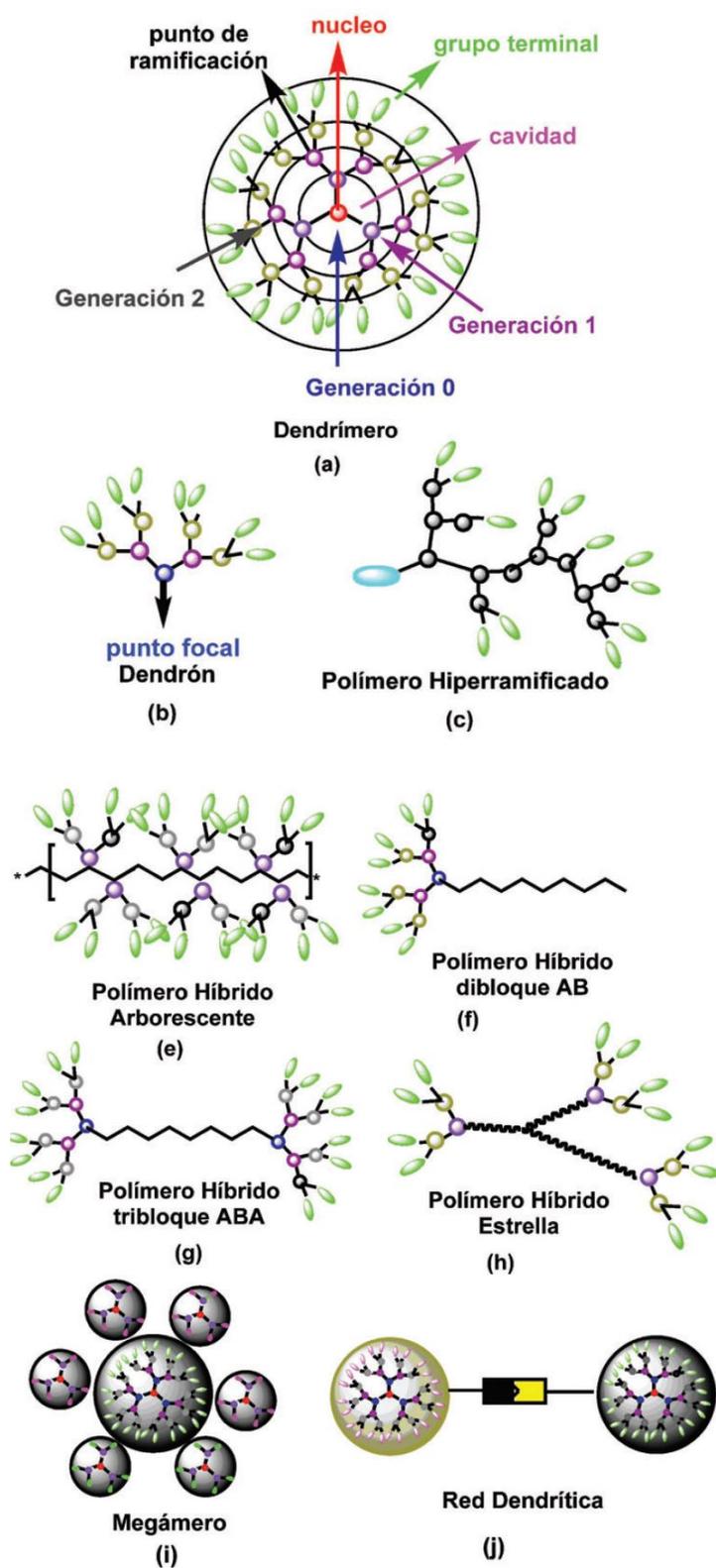


Figura 4. Representación esquemática de diferentes tipos de polímeros dendríticos y macromoléculas híbridas dendríticas-lineales.

Los polímeros hiperramificados al azar (Figura 4c) son estructuras menos perfectas que los dendrímeros, pero que se obtienen de manera más sencilla y menos costosa, siendo por tanto una alternativa más barata para aquellas aplicaciones que permitan las imperfecciones (Gao y Yan, 2004).

Los copolímeros híbridos dendríticos lineales, son estructuras híbridas que combinan dos tipos de arquitectura macromolecular muy diferentes, se pueden dividir en:

- Copolímero en dibloque AB (Figura 4f).
- Copolímero en tribloque ABA, que se pueden denominar “dumbbell” cuando B es una macromolécula lineal (Figura 4g)
- Copolímeros dendronizados “dendronized” (Figura 4e)
- Copolímero estrella dendríticos lineales (Figura 4h)

Los copolímeros dendronizados esta formados por una cadena principal rodeada de dendrones como cadenas laterales. El término “dendronized” fue propuesto por Schlüter (Schlüter, 1998) y el término “megámero” por Tomalia y cols (Tomalia y cols., 2002), este último describía un núcleo catiónico dendrímero rodeado por un caparazón de dendrímeros aniónicos en exceso que da lugar a una especie neutra llamada “coreshell tecto (dendrimers)”. Los megámeros se pueden formar por enlaces covalentes (estructura controlada supermolecular) o construidos al azar (supramolecular) (Figura 4i), según la definición dada por Tomalia son casi monodispersos (Tomalia y Swanson, 2002). Las redes dendríticas (Figura 4j) son polímeros formados por entrecruzamientos de dendrímeros (Newkome y cols., 2001).

4.1. ESTRATEGIAS GENERALES DE SÍNTESIS DE DENDRÍMEROS

Un aspecto común para todas las estructuras dendríticas descritas anteriormente es que los monómeros van a tener más de un grupo funcional, van a ser del tipo **AB_x**, donde A y B son grupos funcionales distintos que sólo pueden reaccionar ente si, y donde x representa el número de grupos reactivos con la funcionalidad B. Su valor va a ser siempre mayor o igual a 2, por lo que va a dar lugar a ramificaciones (si los monómeros fueran del tipo **AB** producirían polímeros lineales). Por lo que la polimerización de monómeros del tipo **AB_x** producirá estructuras dendríticas altamente ramificadas.

La síntesis clásica implica un procedimiento de reacción en pasos, en los que se va a repetir, una y otra vez, el mismo protocolo de desprotección y activación, y a los que acompañan procedimientos de purificación entre generaciones muy cuidadosos (Gao y Yan, 2004).

La síntesis de dendrímeros se puede llevar a cabo, principalmente, por dos estrategias diferentes (Tomalia y Fréchet, 2002). La primera, descrita por Tomalia y colaboradores (Tomalia y cols., 1985; Tomalia, 1996), que se conoce con el nombre de “método divergente”, y la segunda que fue descrita por primera vez por Fréchet y colaboradores (Hawker y Fréchet, 1990) que se denominó “método convergente” (Figura 5).

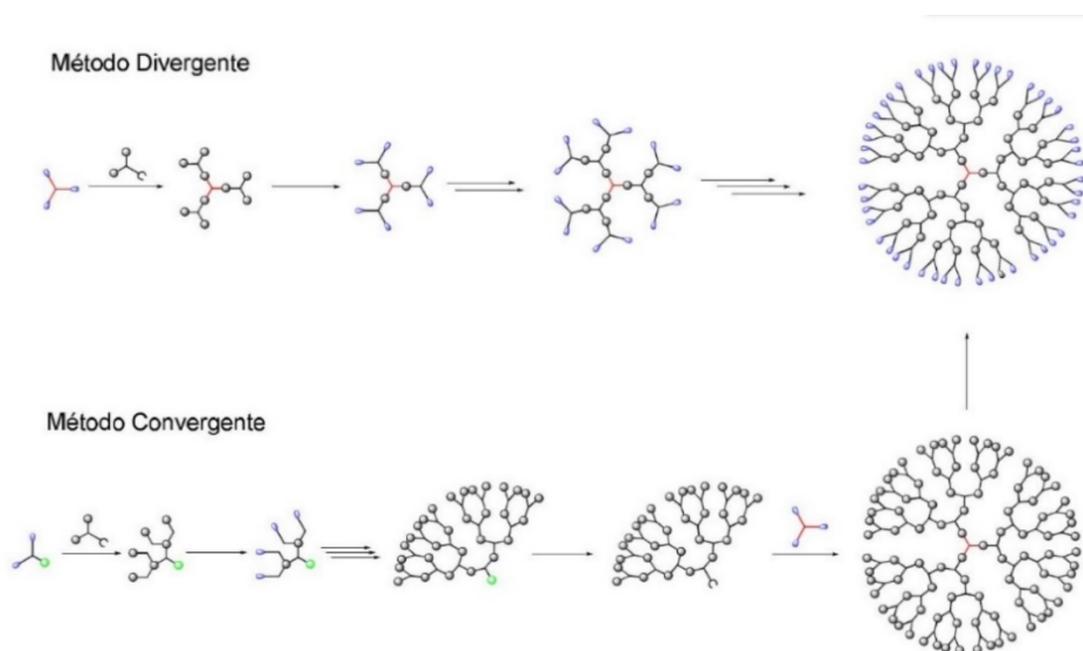


Figura 5. Representación de los métodos divergente y convergente de síntesis de dendrímeros.

4.1.1. Método divergente

En la aproximación divergente, el dendrímero se sintetiza desde el núcleo como punto de inicio, y se va creciendo, generación tras generación, hasta la periferia. Sin embargo, el elevado número de reacciones que tienen que llevarse a cabo sobre una misma molécula, con muchos sitios de reacción equivalentes, requiere unas transformaciones muy efectivas con rendimientos próximos a cuantitativo si se quiere evitar defectos. Incluso para transformaciones por generación muy eficaces, el

rendimiento de un dendrímero de polipropilenimina (PPI) “perfecto” será aproximadamente sólo del 25% por el método divergente (Bosman y cols., 1999).

4.1.2. Método convergente

La alternativa, la llamada síntesis convergente desarrollada por Hawker y Fréchet (Hawker y Fréchet, 1990), comienza desde la periferia y finaliza en el núcleo, donde los distintos segmentos de dendrímero (o dendrones) son acoplados todos juntos. En la aproximación convergente, solamente un pequeño número de sitios reactivos están funcionalizados en cada paso, por lo que el número de defectos será menor, aumentando también el rendimiento. Cada generación sintetizada puede por tanto ser purificada, aunque a medida que el número de generaciones vaya aumentando, la purificación se va haciendo cada vez más difícil por el gran parecido entre los reactantes y el producto formado. Sin embargo, con una purificación apropiada en cada paso, se pueden llegar a obtener dendrímeros sin defectos por la alternativa convergente.

4.2. QUÍMICA “CLICK”

4.2.1. Introducción

Introducido por el profesor Sharpless en el año 2001, este nuevo concepto se inspira en el hecho de que en la naturaleza se generan nuevas sustancias al unir pequeñas unidades modulares. La química “click” permite la preparación de una amplia diversidad de estructuras complejas a partir de la unión, vía enlaces C-heteroátomo, de una serie de moléculas más pequeñas mediante un número selecto de reacciones muy eficientes. Estas reacciones son no reversibles, rápidas y transcurren con altos rendimientos, para dar productos estables, prácticamente puros o con muy pocas impurezas, que se podrán en cualquier caso separar por procedimientos no cromatográficos. Los ejemplos más destacados de reacciones que pertenecen a lo que se denomina química “click” se recogen en la Figura 6.

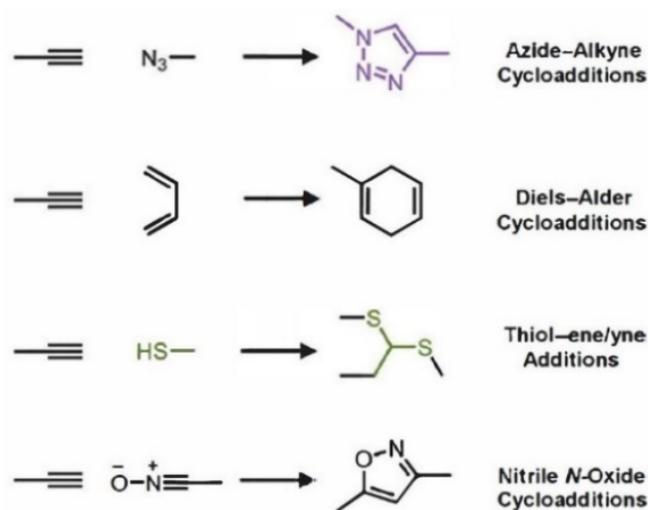


Figura 6. Ejemplos de la química “click”

4.2.1.1. Cicloadición azida-alquino (AAC)

La reacción prototipo dentro de las clasificadas como "click" es la reacción de cicloadición 1,3-dipolar entre azidas y alquinos terminales, cuyo valor práctico reside principalmente en la facilidad de introducción de las funciones azida y alquino en los compuestos orgánicos.

El gran impacto de la misma tuvo lugar cuando se descubrió que la reacción de cicloadición anterior podía ser catalizada por iones cobre (I), este proceso se abrevia como reacción CuAAC (Figura 7). La reacción catalizada se acelera un millón de veces con respecto a la versión clásica no catalítica (cicloadición térmica), con rendimientos mucho mayores, y dando lugar a una absoluta regioselectividad con la formación de anillos de 1,2,3-triazoles 1,4-disustituidos (Kolb y cols., 2001; Wu y cols., 2004).

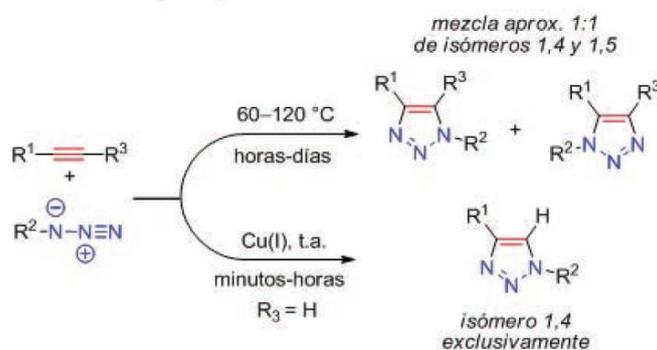


Figura 7. Versión clásica no catalítica y versión catalizada por Cu (I) de la cicloadición 1,3-dipolar de azidas y alquinos.

La cicloadición azida-alquino catalizada por iones Cu(I) (CuAAC), ha sido utilizada frecuentemente y con éxito en numerosos procesos de bioconjugación, ya que presenta una serie de características que la hacen muy deseable. Así, además de transcurrir con altos rendimientos, y poseer una elevada tolerancia frente a la presencia de una amplia variedad de grupos funcionales, los productos finales de reacción se podrán purificar con facilidad debido a la casi ausencia de reacciones secundarias.

A pesar de su demostrada fiabilidad, la reacción CuAAC tiene dos problemas importantes. El primero de ellos, es que los productos finales de la cicloadición catalizada pueden ir contaminados en mayor o menor medida por el metal cobre. La presencia de cobre, debido a sus posibles efectos citotóxicos, puede ser un inconveniente para la síntesis y/o funcionalización de los nanomateriales, tales como dendrímeros, para posteriores aplicaciones y en especial las dedicadas al campo de la biomedicina. En particular, la extracción del cobre residual es muy difícil en grandes moléculas que contienen múltiples grupos funcionales capaces de unirse con los iones de cobre, por ejemplo, en la preparación de dendrímeros o dendrones, que pueden estar contaminados por cantidades significativas de cobre, descartando así su uso en aplicaciones farmacéuticas (Ornelas y cols., 2010).

El segundo inconveniente al que se tiene que enfrentar este tipo de reacción “click” es el potencial carácter explosivo de las azidas orgánicas. La conocida como “regla de Smith” nos indica que la suma del número de átomos de carbono y de oxígeno dividido por el número de átomos de nitrógeno debe ser superior a 3 a fin de evaluar la capacidad explosiva de la azida (Boyer y cols., 1964).

[4.2.2. Química click “AAC” y síntesis de dendrímeros](#)

La síntesis de dendrímeros, especialmente aquellos que tienen un número elevado de generaciones, es extremadamente tediosa debido en parte a las largas secuencias de purificación que hay que realizar entre generaciones. Por otro lado, la ineficiencia de algunas reacciones contribuye a que a medida que se crece un dendrímero, aparezcan más defectos en su estructura, lo que constituye un grave inconveniente. Es por ello, por lo que se han ido desarrollado estrategias sintéticas rápidas, que reduzcan significativamente el tiempo de preparación, tanto por el aumento de la eficacia en las reacciones como por la simplicidad en su purificación. En este

sentido la química “click” está contribuyendo de manera muy significativa a la síntesis de dendrímeros.

Un ejemplo del empleo de la química “click”, por acoplamiento azida-alquino, para la síntesis de dendrímeros siguiendo la aproximación convergente descrita inicialmente por Fréchet, se muestra de manera esquemática en la Figura 8.

En este caso, se emplean monómeros del tipo AB₂, que contienen dos funciones alquino terminales y una función haluro de alquilo primario. En una primera etapa el bis-alquino va a reaccionar con alquilazidas, por ejemplo, con terc-butilazida, para dar los bistriazoles [R-X-(G1)-Cl; R= ^tBu] en rendimiento prácticamente cuantitativo, y posteriormente, el haluro de alquilo primario se hará reaccionar con azida de sodio, para obtener la correspondiente azida-bistriazol [R-X-(G1)-N₃; R= ^tBu].

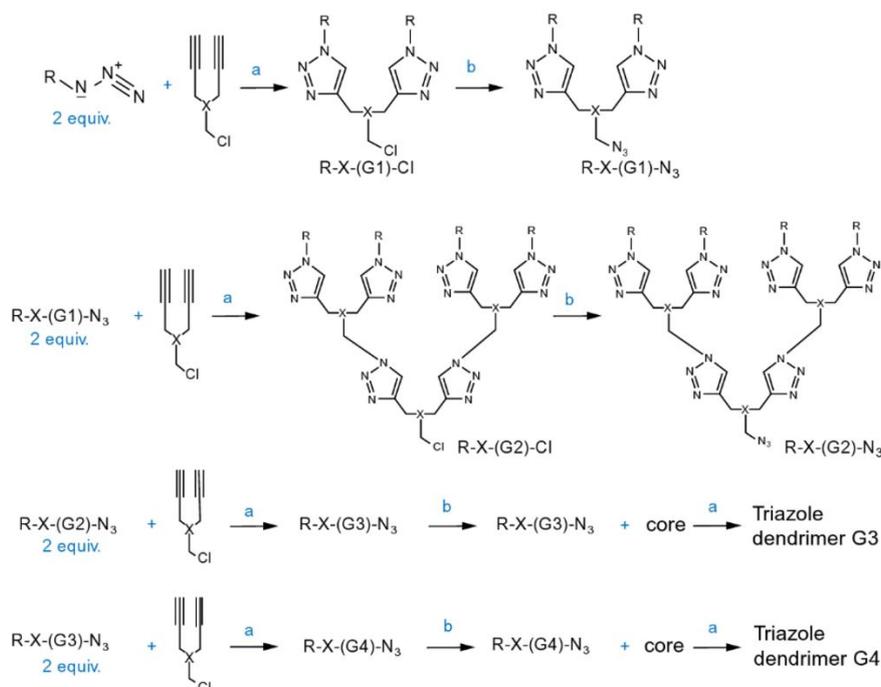


Figura 8. Síntesis convergente de un dendrímero conteniendo triazol empleando la química “click”. (a) CuSO₄ (5% mol), ascorbato de sodio (10% mol), H₂O / ^tBuOH (1: 1); (b) 1,5 equiv NaN₃, CH₃COCH₃ / H₂O (4: 1), 60°C, 1-3 h.

A continuación, el procedimiento se repetiría sustituyendo sencillamente la alquilazida inicial por la azida-bistriazol [R-X-(G1)-N₃; R= ^tBu] recientemente obtenida. De este modo, se van construyendo los dendrones desde la superficie, donde estarían los grupos terc-butilo, hacia el interior en el que quedaría una función azida. Finalmente, una vez alcanzada la generación deseada, se unirían los dendrones sintetizados al núcleo del dendrímero. Este paso se representa en la Figura 9, en la que

tres dendrones de tercera generación [6, R-X-(G3)-N₃; R= ^tBu] se unen por medio de la reacción “click” azida-alquino, al núcleo del dendrímero que es el tri-ino **8**.

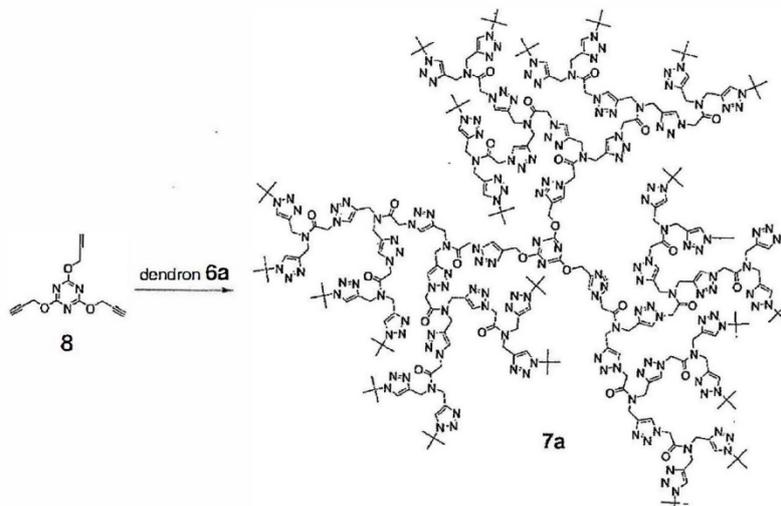


Figura 9. Síntesis del dendrímero 7a.

También se ha empleado la química “click para la síntesis de dendrímeros a través del procedimiento divergente. Así, en el ejemplo que se describe a continuación, se comienza por la síntesis del núcleo, que en este caso va a contener dos funciones azida. Su síntesis, así como la del núcleo y la del monómero con el que se va a hacer reaccionar se muestran en las Figuras 10 y 11.

El núcleo se preparó en un solo paso a partir de 1,2-bis(2-cloroetoxi)etano por reacción con azida de sodio; mientras que el monómero se sintetizó en dos etapas de reacción a partir de 5-hidroxifitalato de dimetilo. En primer lugar, se llevó a cabo la alquilación de la función fenol presente, y posteriormente se reducen las dos funciones éster a alcohol primario (Figura 10) (Joralemon y cols., 2005).

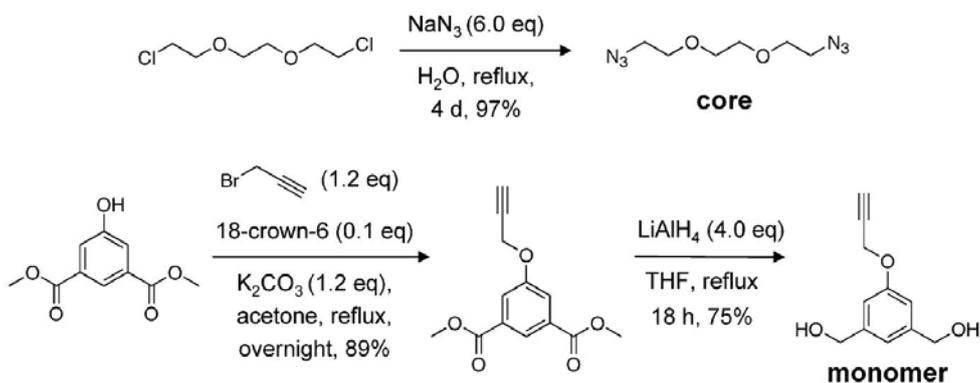
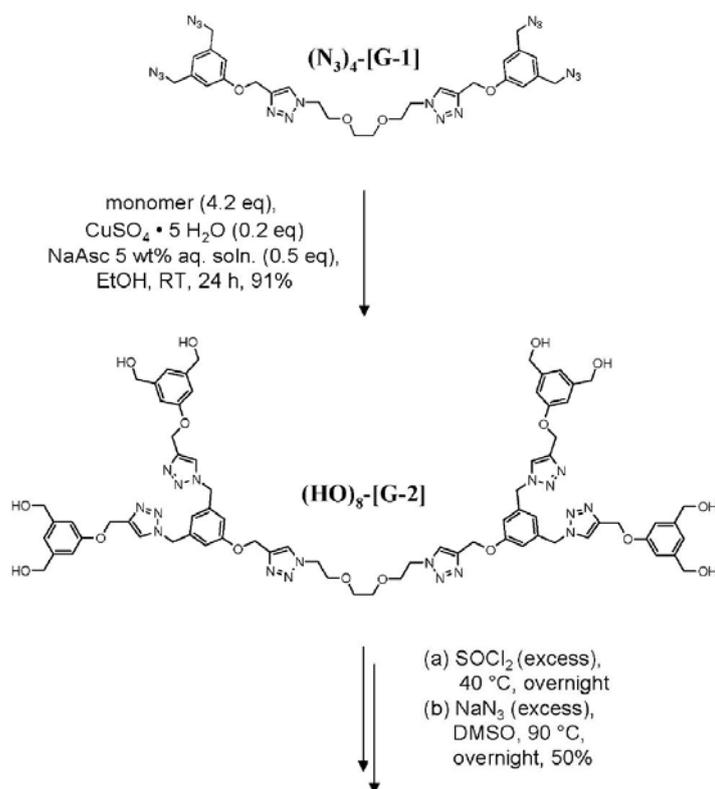


Figura 10. Síntesis del núcleo y del monómero empleado en la síntesis del dendrímero (N₃)₁₆-[G-3].

La reacción “click” entre el núcleo y dos equivalentes del monómero llevan a la obtención de la primera generación del dendrón $(\text{HO})_4\text{-[G-1]}$. Posteriormente, la reacción de las cuatro funciones alcohol primario, presentes en el dendrón, con cloruro de tionilo y a continuación con azida de sodio conducirían a $(\text{N}_3)_4\text{-[G-1]}$ (Figura 11). Este último compuesto se sometería a una posterior reacción con el monómero (4 equivalentes), y se irían repitiendo los pasos anteriormente descritos para obtener un dendrón de segunda generación $(\text{HO})_8\text{-[G-2]}$, y así sucesivamente hasta la generación deseada (Figura 11).



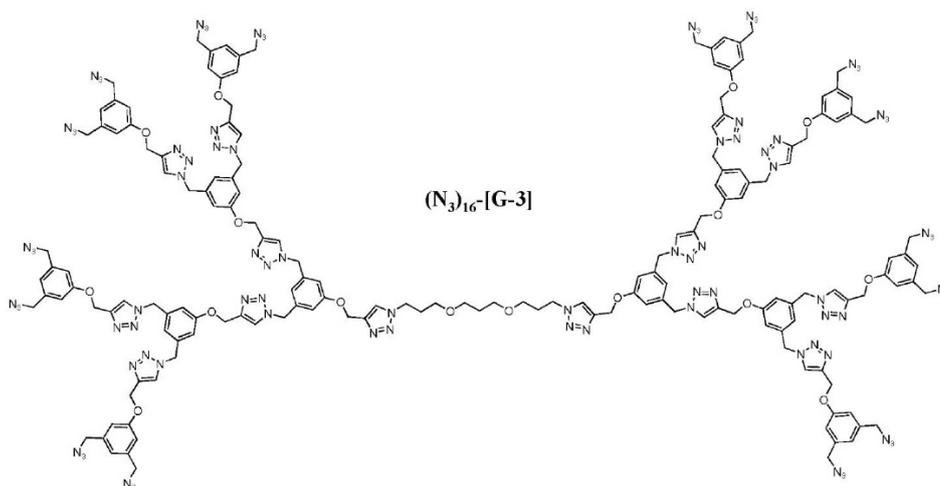


Figura 11. Síntesis de $(N_3)_{16}$ -[G-3]

La reacción de cicloadición azida-alquino, tanto térmica como catalizada por iones cobre (I) ha sido utilizada, a pesar de los inconvenientes anteriormente mencionados, en numerosos ejemplos de síntesis de dendrímeros a lo largo de estas últimas décadas (Johnson y cols., 2008; Iha y cols., 2009; Franc y Kakkar, 2010; Astruc y cols., 2012; Kempe y cols., 2012; El Brahmí y cols., 2013). Por ejemplo, dendrímeros multifuncionales tipo “Miktoarm” (Shi y cols., 2016), o modificaciones basadas en dendrímeros con estructuras bien definidas como el PMPA (poli(ácido 2,2-bis(hidroximetil)propanoico) (Sadowski y cols., 2016); o dendrímeros que contienen oligoespiroacetales (OSK) (Wessig y cols., 2015).

Con objeto de evitar el empleo de catalizadores metálicos que pudieran causar una cierta prevención o directamente el rechazo del material preparado para su empleo en áreas como la biomedicina, en la actualidad, se están desarrollando otras técnicas que se comentan brevemente a continuación.

[4.2.2.1. Cicloadición azida-alquino promovida por tensión anular \(SPAAC\)](#)

Uno de las formas de realizar la cicloadición azida-alquino a temperatura ambiente sin el uso de un catalizador metálico es la cicloadición azida-alquino promovida por la tensión anular, “Strain-promoted Azide-Alkyne Cycloaddition” (SPAAC).

Wittig y Krebs (Wittig y Krebs, 1961) habían demostrado que el ciclooctino y la fenilazida reaccionaban muy rápidamente, de manera parecida a una explosión. Basándose en esta reacción, en la que la inhabitual alta tensión del anillo actúa como activador del alquino y promueve la reacción sin necesidad de usar cobre u otro metal como catalizador, se comenzó a investigar el empleo de cicloalquinos muy tensionados (concretamente ciclooctinos) como reacción “click”. En efecto, el ángulo de enlace en los átomos de carbono con hibridación “sp” del ciclooctino es de aproximadamente 160° en lugar de los 180° teóricos, y que pasa a un valor de 120° en el estado de transición que conduce a la formación del triazol, lo que produce un aumento de la velocidad de reacción. El primer ciclooctino utilizado para su empleo en química click en ausencia de catalizador metálico fue el compuesto **1** (Figura 12), observándose de que, efectivamente, su cinética de reacción era bastante más rápida que cuando se empleaban alquinos lineales. Sin embargo, todavía había posibilidades de seguir mejorándola aún más. Así, en los últimos años se han desarrollado diversos sistemas basados en ciclooctinos altamente reactivos. Destacan los trabajos de Bertozzi y colaboradores (Agard y cols., 2006; Baskin y cols., 2007), que diseñaron sistemas de ciclooctino conteniendo uno o dos átomos de flúor en el anillo, lo que aumentaba la velocidad de reacción 3 y 60 veces, respectivamente, debido al efecto electrón-atractor de los átomos de flúor.

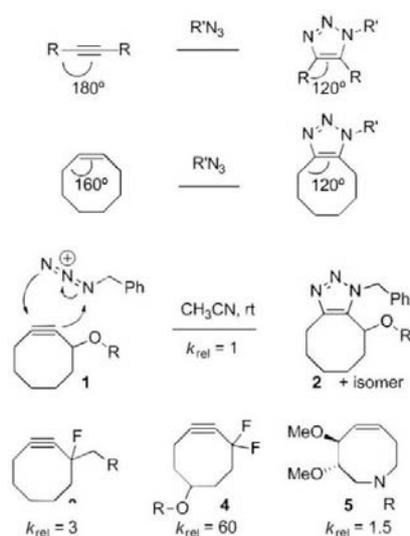


Figura 12. Reacción entre un derivado del ciclooctino y azidas en ausencia de catalizador (Jewett y cols., 2009)

Un ejemplo del empleo de la técnica SPAAC para la preparación de dendrímeros puede mostrarse mediante la síntesis del dendrímero poli(amidoamina) (PAMAM) de quinta generación (Huang y cols., 2011), que se comenta seguidamente.

Los dendrímeros PAMAM fueron los primeros esqueletos dendríticos en estar disponibles comercialmente (Soršak y cols., 2015), lo que conlleva que la amplia mayoría de publicaciones relativas a transfección de material genético utilizando dendrímeros como vectores estén realizadas con esta familia de dendrímeros (Eichman y cols., 2000; Kesharwani y cols., 2015).

Los dendrímeros PAMAM están constituidos por un núcleo central correspondiente a una molécula de amoníaco o etilendiamina, desde el cual emergen ramificaciones que crecen de manera uniforme hasta llegar a la superficie del dendrímero, donde se encuentran funciones amina primaria, a las que se pueden unir diferentes grupos funcionales o moléculas. Estos dendrímeros van a ir creciendo hasta alcanzar un punto crítico en el que se observa que la presencia de numerosos grupos amonio provoca una toxicidad significativa, lo que impide la síntesis de dendrímeros de mayor tamaño. Este tipo de dendrímero ha atraído la atención durante décadas ya que es biocompatible, presenta una baja polidispersidad, y presenta una gran facilidad para realizar amplias modificaciones en su superficie.

Por ejemplo, la síntesis del dendrímero PAMAM G-5, presenta su superficie modificada con grupos ciclooctino, que posteriormente se harán reaccionar con diferentes moléculas pequeñas, sin necesidad de incluir ningún catalizador metálico (Figura 13).

En la Figura 13 podemos observar cómo se realiza, paso a paso, la modificación en la superficie del dendrímero PAMAM G-5, para que finalmente contenga 20 ciclooctinos en la periferia. En primer lugar, se acetila parcialmente en metanol con anhídrido acético en presencia de trietilamina (TEA) para incrementar la solubilidad del dendrímero en disolventes orgánicos. Posteriormente, la reacción entre el dendrímero **2**, parcialmente acetilado, y el compuesto **3** condujo a la obtención del compuesto **4**, que se terminó de acetilar (todas las funciones amino libres que quedaban) para obtener el compuesto **5**. El compuesto **5** se purificó y se unió mediante la reacción SPAAC al γ -azido metotrexato **8**.

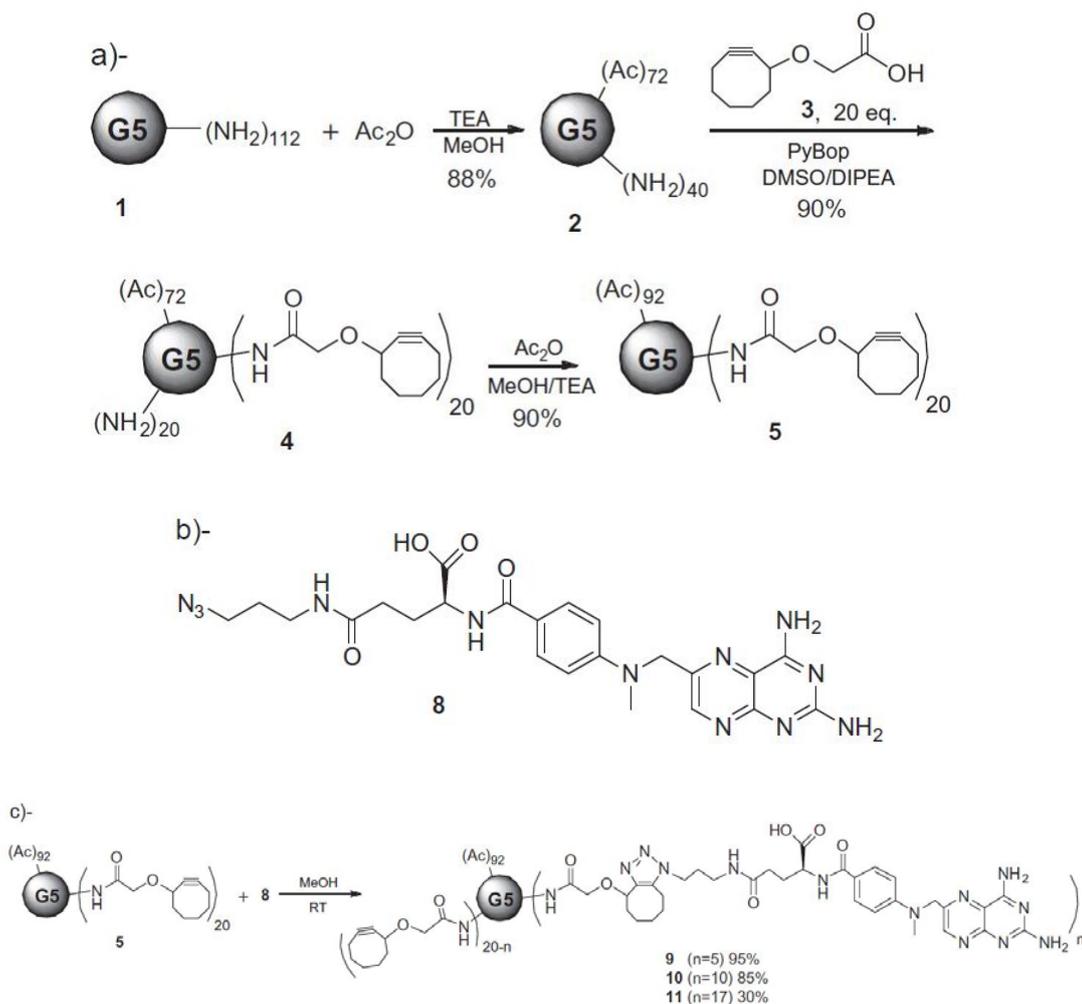


Figura 13. (a) Síntesis del dendrímero PAMAM G-5 con 20 ligandos ciclooctinos. (b) γ -azido metotrexato **8**. (c) Reacción SPAAC entre PAMAM modificado y **8**.

4.2.2.2. Otras reacciones AAC sin catalizador metálico

Otra solución diferente para promover la reacción AAC sin necesidad de usar cobre como catalizador es utilizar alquinos deficientes en electrones tales como los derivados del ácido acetilenoedicarboxílico. Un ejemplo es la reacción AAC entre but-2-inoato de bis(bromopropilo) (BBBD) y 1,4-bis(azidometil)benceno.

Primero, una reacción entre el ácido acetilenoedicarboxílico y 3-bromopropanol conduce al BBBD, que es un monómero activado que puede reaccionar con azidas en un medio libre de catalizadores metálicos (Figura 14) (Gonzaga y cols., 2013).

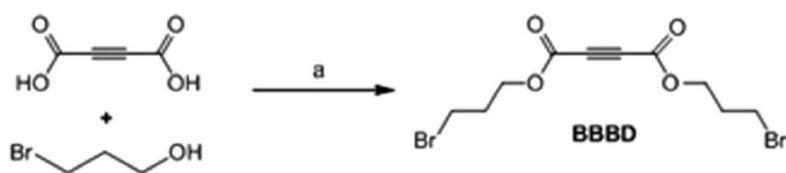
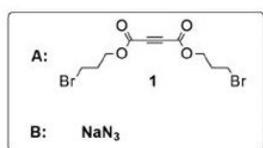
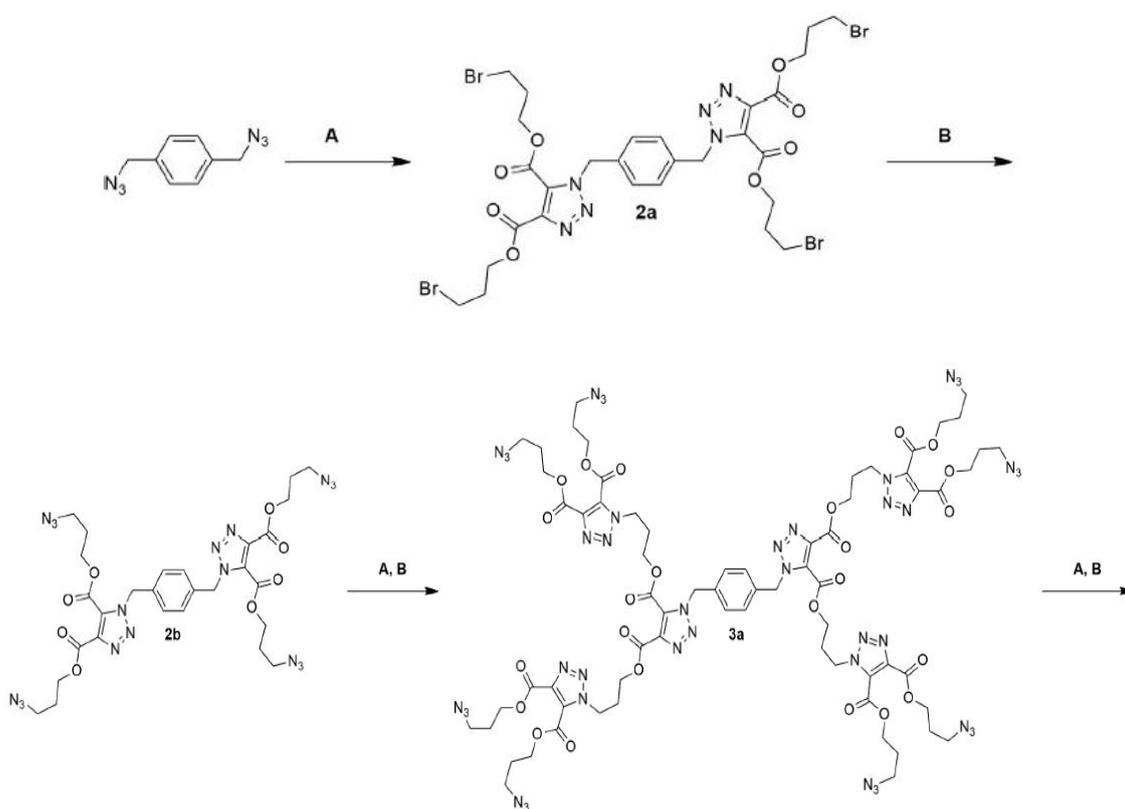


Figura 14. Reacción entre el ácido acetilénodicarboxílico y 3-bromopropanol.
 (a) Benceno, pTSA(catalítico), trampa Dean-Stark, 26 h.

Posteriormente, la reacción AAC entre BBBD y 1,4-bis(azidometil) benceno se lleva a cabo simplemente mezclando los reactivos en un vial, a temperatura ambiente y sin ningún catalizador (Figura 15).



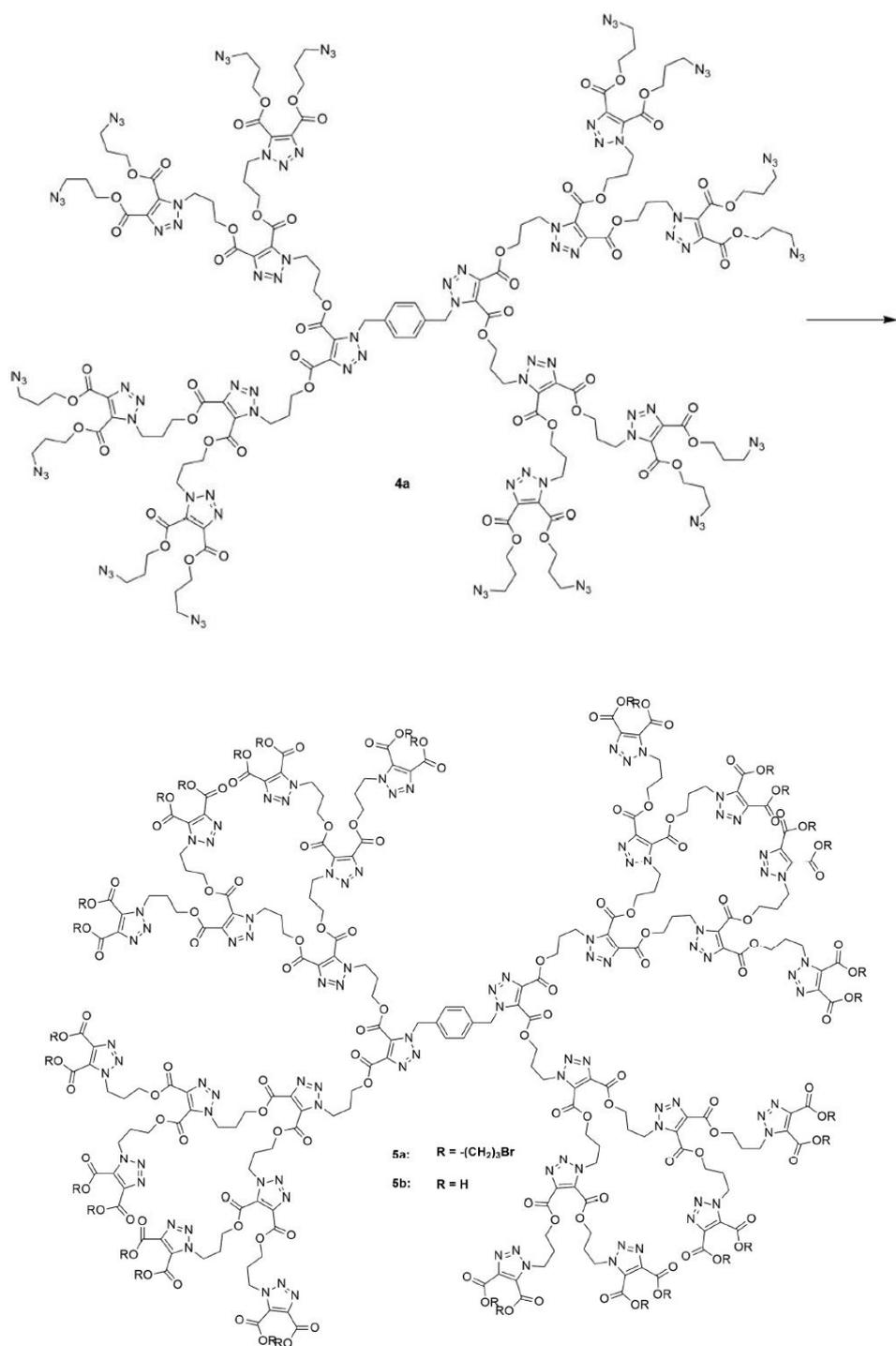


Figura 15. Síntesis AAC de dendrímeros terminados en bromo o en azidas.

4.2.2.3. Reacción tiol-eno

Como ya se comentó en la Figura 6, además de la reacción “click” azida-alquino, hay otras reacciones “click” que también se utilizan con frecuencia. Una de las más habituales es la conocida como reacción “tiol-eno”. La reacción “tiol-eno”, aunque

conocida desde hace muchas décadas, ha experimentado en la actualidad un fuerte impulso debido a la alta eficiencia y la ortogonalidad que presenta (Lowe, 2010; Kade y cols., 2010; Walter y cols., 2011).

En efecto, este tipo de reacción se ha empleado para la síntesis de diversos dendrímeros, como por ejemplo la preparación de dendrímeros carbosilano iónicos (catiónicos y aniónicos) (Zhang y cols., 2016; Fuentes-Paniagua y cols., 2014; Galán y cols., 2014), dendrímeros multifuncionales (Kottari y cols., 2014), dendrímeros que contienen silicio (Xue y cols., 2013).

Un ejemplo de la aplicación de esta reacción se muestra en la Figura 17. En esta síntesis se combina dos de las reacciones “click” más utilizadas, la reacción tiol-eno y CuAAC, lo que permiten obtener un dendrímero de alta generación en muy poco tiempo (Montañez y cols., 2010; Antoni y cols., 2010). El procedimiento acelerado de doble “click” AB₂ + CD₂, que se muestra en la Figura 15, permite obtener un dendrímero de sexta generación en tan sólo un día, lo que demuestra que la síntesis de dendrímeros no tiene por qué ser lenta y tediosa, que son dos de sus mayores inconvenientes.

La preparación de los monómeros AB₂ y CD₂ se muestra en la Figura 16. En ambos casos el producto de partida fue el mismo, el ácido 2,2-bis(hidroximetil)propiónico, un producto económico y fácilmente asequible.

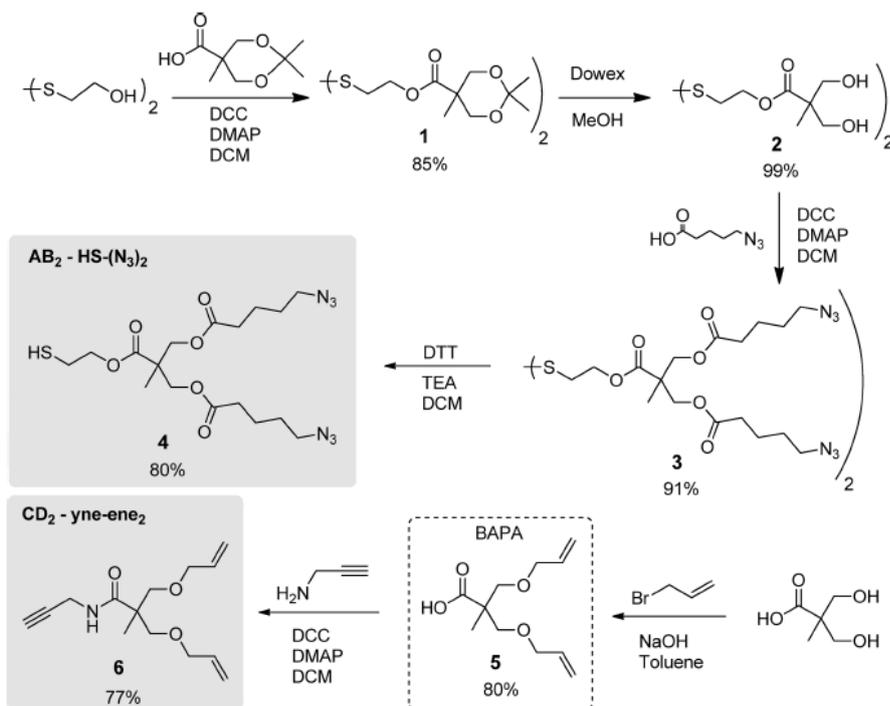


Figura 16. Preparación de los monómeros AB₂ y CD₂.

La primera generación del dendrímtero se obtuvo vía una reacción tiol-eno entre el monómero **4** y el núcleo, tris(aliloxi)triazina, en presencia de un iniciador radicalico, 2,2-dimetoxi-2-fenilacetofenona (DMPA). La reacción se purga con argón y se irradia con luz UV, seguida de una simple filtración a través de silica gel para separar el dendrímtero de primera generación del monómero **4** que estaba en exceso. Posteriormente, el dendrímtero de G-1 puro se hizo reaccionar con el monómero **6**, en las condiciones clásicas de Sharpless (CuSO₄, ascorbato de sodio en THF-agua) para obtener la segunda generación del dendrímtero. La repetición de esta estrategia con adiciones sucesivas de los monómeros AB₂/CD₂, en reacciones que han demostrado ser rápidas, eficientes y con procedimientos de purificación fáciles, permiten la producción de dendrímteros de alta generación en muy cortos periodos de tiempo.

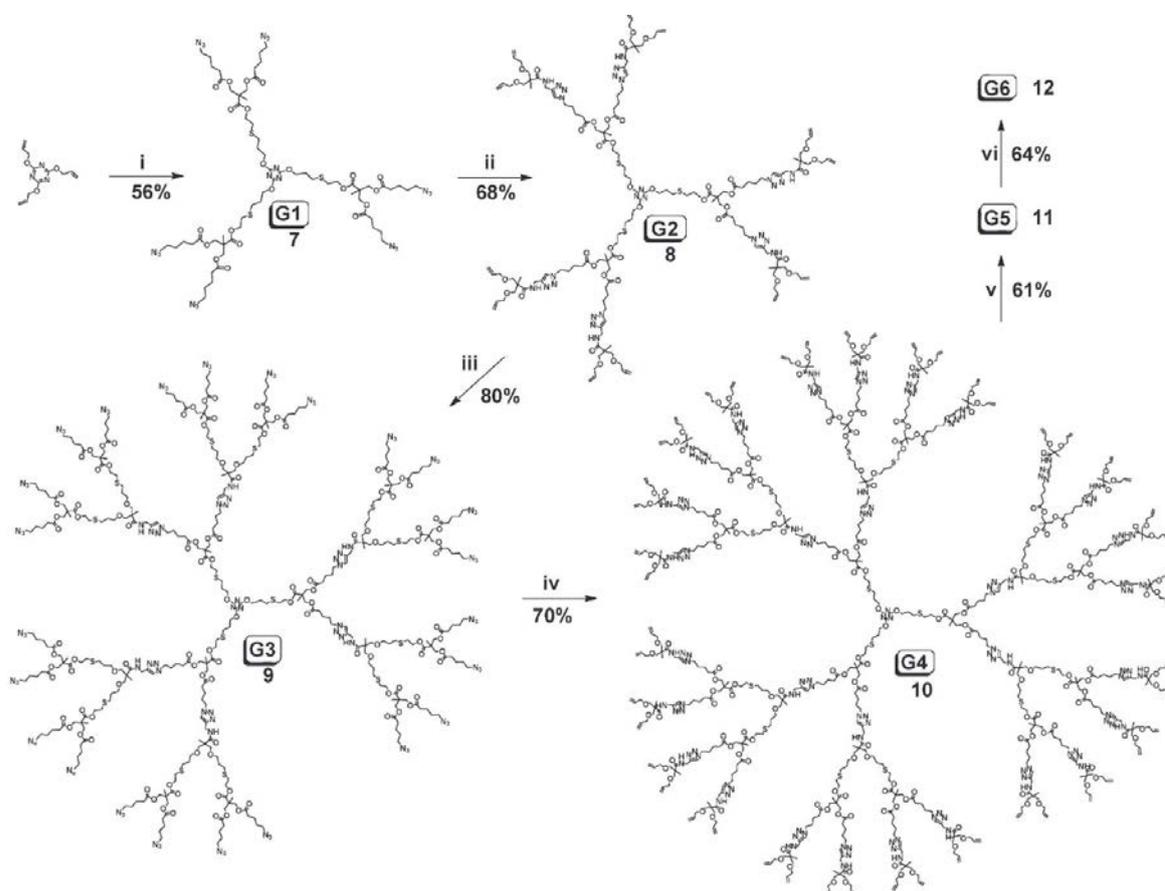


Figura 17. Síntesis de un dendrímtero G-6

(i) 2 equiv de 4/eno, luz UV durante 0,75 h; (ii) 1,1 equiv de 6/N₃, 1 h; (iii) 4 equiv de 4/eno, luz UV durante 0,75 h; (iv) 1,1 equiv de 6/N₃, 1 h; (v) 7 equiv de 4/eno, luz UV durante 0,75 h; (vi) 1,6 equiv de 6/N₃, 2 h.

De manera parecida, otras reacciones similares se han aplicado a la síntesis de dendrímeros. Así, la combinación de la reacción tiol-ino con la adición aza-Michael permitió la síntesis de un dendrímero G-5 en 5 etapas (Shen y cols., 2013).

4.3. Dendrímeros y VIH

4.3.1. VIH y SIDA: Aspectos generales

El SIDA sigue siendo una de las enfermedades infecciosas más importantes para la que no hay un tratamiento curativo ni vacuna (De Cock y cols., 2012). La terapia antirretroviral actual contra el virus de inmunodeficiencia humana (VIH), consiste en 26 medicamentos clínicamente aprobados, principalmente enfocados en las enzimas virales proteasa y transcriptasa inversa, que son administradas en combinación, en la llamada Terapia Antirretroviral de Gran Actividad (TARGA) (Volberding y Deeks, 2010).

Sin embargo, a pesar de este importante éxito terapéutico, el régimen combinado está asociado con efectos secundarios a largo plazo y la aparición de cepas del VIH resistentes a los medicamentos (Margolis y cols., 2014).

Así en el marco de la búsqueda de nuevas terapias y estrategias preventivas frente al VIH, los dendrímeros se han propuesto como una mejora de la actividad antiviral frente a esta epidemia.

4.3.2. Dendrímeros de triptófano como inhibidores del proceso replicación del VIH

Se han preparado dendrímeros que contienen de 9 a 18 residuos de triptófano en su periferia, y se ha encontrado que pueden actuar de manera eficiente contra la replicación del VIH. Estos compuestos inhiben un paso temprano del ciclo replicativo del VIH, presumiblemente la entrada del virus a su célula objetivo (Rivero-Buceto y cols., 2015).

Estos dendrímeros se sintetizan fácilmente combinando una estructura central (núcleo) conteniendo 3, 4, 5 ó 6 funciones ácido carboxílico (representado por un triángulo, en la Figura 18), con distintos grados de restricción conformacional y capaces de orientar dichos residuos de manera diferente en el espacio, con un aminotriéster (amina de Behera, **1**) como unidad de crecimiento que facilita la incorporación de hasta

18 triptófanos en la periferia. La estructura correspondiente a la molécula conteniendo 9 unidades de triptófano se muestra en la Figura 18.

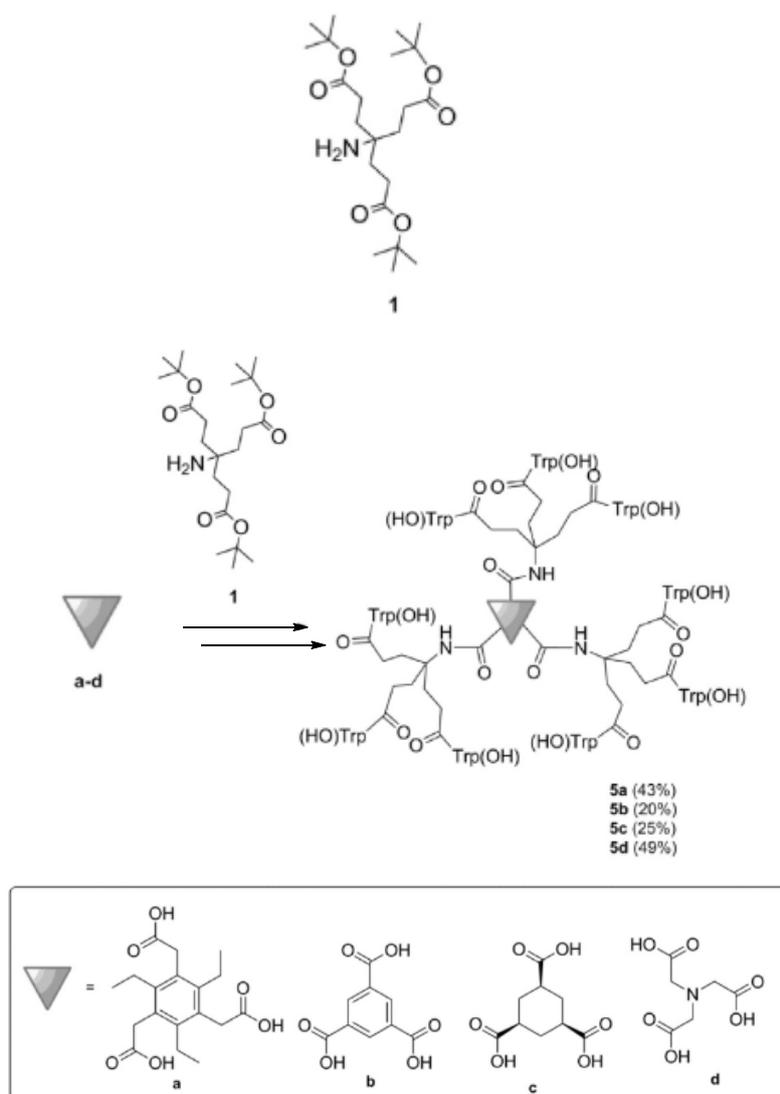


Figura 18. Dendrímeros conteniendo 9 residuos de triptófano en la periferia.

Los datos de actividad anti-VIH indican que la presencia de triptófano en la periferia de los dendrímeros (al menos conteniendo 9 residuos) es crucial para la actividad antiviral, ya que aquellos que no los contenían o contenían una cantidad inferior no mostraron dicha actividad.

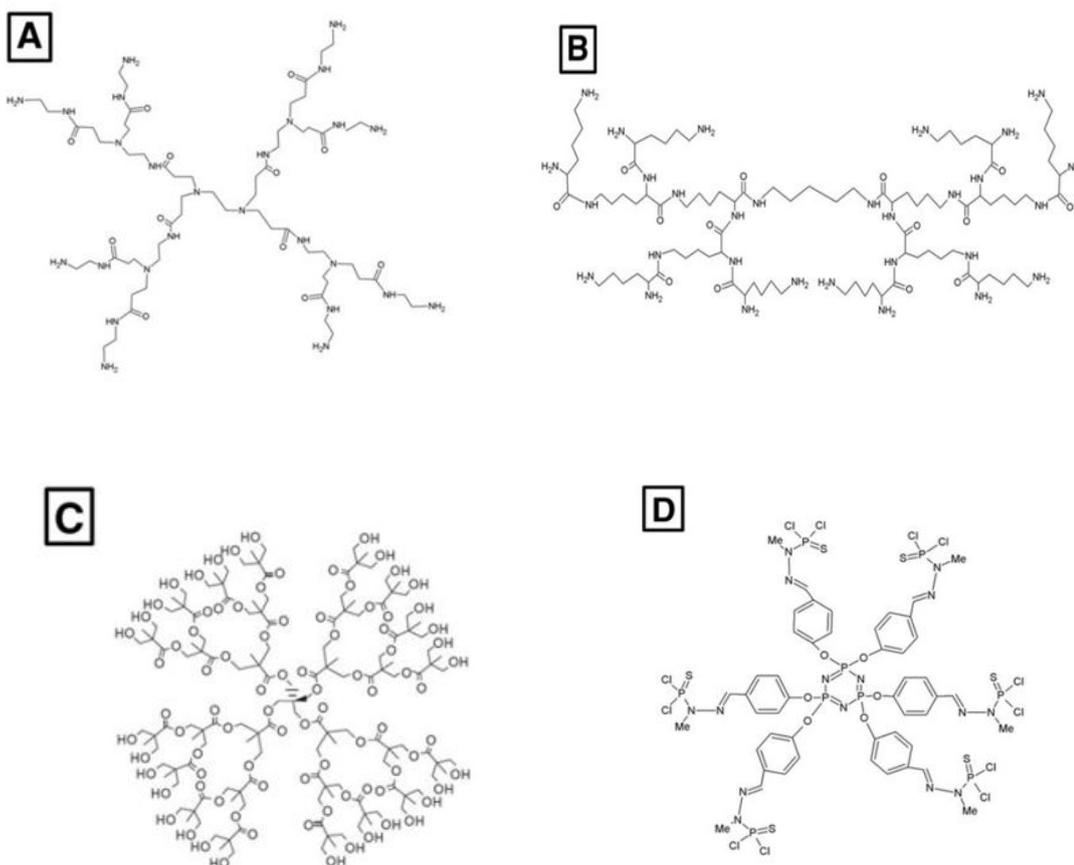
Por otra parte, con el fin de conocer la etapa en la que actúan los compuestos sobre el ciclo replicativo viral, se llevaron a cabo estudios de tiempo de adición. Los resultados obtenidos indican que estos compuestos actúan en etapas tempranas de dicho

ciclo, concretamente, inhiben la entrada del virus en la célula (Rivero-Buceta y cols. 2015).

4.3.3. Dendrimeros polianiónicos de tipo carboxilano como potenciales microbicidas frente al VIH

Una de las estrategias en desarrollo más avanzadas es la búsqueda de microbicidas, que son compuestos que aplicados vía tópica en forma de geles vaginales o rectales, anillos u otras formulaciones, previenen la infección por el VIH desde sus primeras fases.

Los dendrimeros son la única nanotecnología que presenta avances en pruebas clínicas humanas como microbicida tópico para la profilaxis de VIH. En la Figura 19, se muestra varios dendrimeros que han sido sintetizados y estudiados como microbicidas tópicos contra diferentes enfermedades de transmisión sexual (Sépulveda-Crespo y cols, 2015).



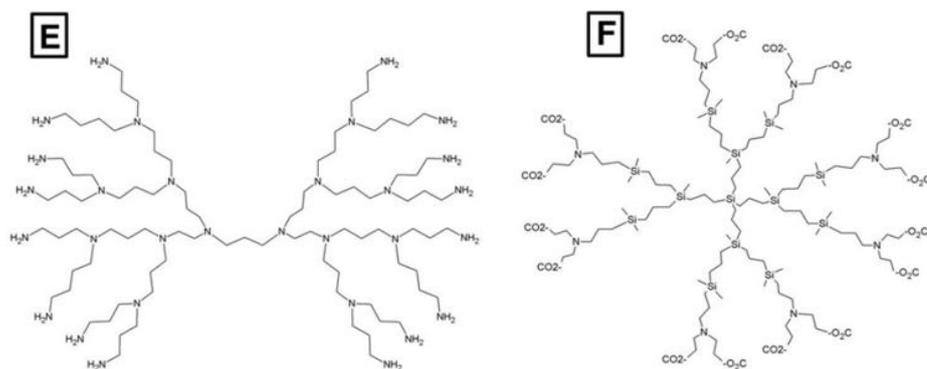


Figura 19. Dendrimeros estudiados como microbicidas: (A) Poliamidoamina (PAMAM); (B) poli (L-lisina) (C) Boltorn; (D) dendrimer que contiene fósforo; (E) polipropilenimina; y (F) dendrimeros de carbosilano (C-Si).

De entre ellos, los dendrimeros polianiónicos de tipo carbosilano (DPCs) son candidatos interesantes para el desarrollo de nuevos microbicidas para la prevención de la transmisión del VIH (Sepúlveda-Crespo y cols., 2015).

La mayoría de los dendrimeros de tipo carbosilano publicados han sido sintetizados a través del método divergente. Así, a partir de tetraalilsilano, o tetravinilsilano, como núcleo, y empleando en primer lugar una reacción de hidrosililación con triclorosilano, y posteriormente haciendo reaccionar el compuesto obtenido en el paso anterior con un compuesto de Grignard, como por ejemplo, bromuro de alilmagnesio, se obtiene la primera generación del dendrimer (Figura 20).

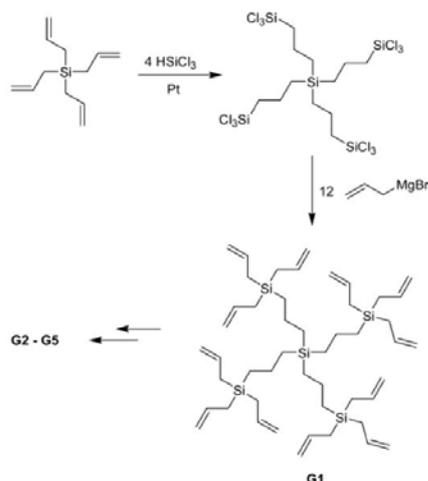


Figura 20. Síntesis general de los dendrimeros de tipo carbosilano.

Las siguientes generaciones se obtienen por la simple repetición de los pasos de hidrosililación y Grignard. De este modo, se pueden obtener fácilmente dendrímeros de carbosilano con un alto número de generaciones (Son, 2013).

Desde un punto de vista sintético y económico para uso como microbicidas contra el VIH/VHS-2, el uso de los dendrímeros de carbosilano con un número de generaciones bajas (< G-3) es más rentable que el empleo de dendrímeros con un número de generaciones altas. El tiempo de preparación que se necesita para la síntesis de los dendrímeros G-3 de carbosilano de alilo es muy elevado, más de 20 días, en comparación con los 2 a 6 días que se necesitan para sintetizar los dendrímeros G-1 y G-2 (Sánchez-Nieves y cols., 2010). Sin embargo, desde una perspectiva biológica como antivirales, hay que tener en cuenta que hay que emplear altas dosis cuando se usan dendrímeros en bajas generaciones, mientras que si se usan dendrímeros de altas generaciones se tienen emplear dosis más bajas para lograr la misma eficiencia antiviral. Por lo que también se deben de tener en cuenta otros factores asociados como la citotoxicidad (Sepúlveda-Crespo y cols., 2015).

En el caso de los dendrímeros, los términos biocompatibilidad y toxicidad son muy difíciles de generalizar porque hay muchos factores a tener en cuenta. En la citotoxicidad de los dendrímeros es relevante características como: carga de superficie, composición química, tamaño y proporción superficie/volumen, o la relación hidrofiliicidad/hidrofobicidad de las nanopartículas (Duncan y Izzo, 2005; Greish y cols., 2012).

Las características superficiales tienen un efecto importante en la eficacia, la absorción por parte de las células y toxicidad de los dendrímeros. Es sabido que los dendrímeros catiónicos interactúan con membranas biológicas negativas, mejorando la permeabilidad y disminuyendo la integridad de la membrana que finalmente causa su desestabilización y lisis celular (Madaan y cols., 2014; Domanski y cols., 2004).

Además, varios estudios han demostrado que los dendrímeros neutros y aniónicos no interactúan con membranas biológicas, por lo tanto, son menos tóxicos que los dendrímeros catiónicos y son más compatibles para aplicación clínicas (Madaan y cols., 2014; Jevprasesphant y cols., 2003).

Tenofovir (TFV), que tiene actividad antiviral doble (anti VIH/VHS-2), y maraviroc (MRV) son los antirretrovirales (ARV) más extensamente estudiados

(Chaowanachan y cols., 2013; Cooper y cols., 2014; Ferir y cols., 2011). Por otro lado, los dendrímeros de carboxilano polianiónico (PCDs) son nanosistemas innovadores, seguros y efectivos dirigidos contra la infección VIH-1 con un gran potencial como microbicidas (Vacas-Cordoba y cols., 2014; Sepúlveda-Crespo y cols., 2014). Se ha encontrado que la combinación de varios PCDs con TFV y/o MRV presenta ciertas ventajas frente a la monoterapia, como el empleo de dosis más pequeñas, lo que minimiza tanto los efectos secundarios como la aparición de resistencias. Sin embargo, la farmacocinética de los compuestos polianiónicos hace que, generalmente, su permanencia en sangre sea muy baja, y se necesiten grandes cantidades de los principios activos para poder ser detectados en un análisis (Swart y cols., 1996). Además, se sabe que ciertas sustancias polianiónicas poseen actividad anticoagulante (Mitsuya y cols., 1988). Todos estos factores dificultan que sean utilizados como inhibidores de la fusión del VIH a células sanas. Sin embargo, todos estos factores no son de importancia en el caso de que estas sustancias polianiónicas sean de uso tópico. La formulación de geles con principios activos de naturaleza polianiónica para su utilización tópica puede ser de suma importancia para evitar la transmisión del VIH.

5. CONCLUSIONES

- 1- Los dendrímeros tienen un alto grado de control sobre su arquitectura molecular y sus dimensiones en comparación con los polímeros lineales tradicionales.
- 2- Se han realizado avances considerables en la simplificación de la síntesis de dendrímeros, como el uso de la química “click”, que ha dado lugar a una amplia variedad de compuestos dendríticos, al mismo tiempo que han reducido el coste de su producción.
- 3- La reacción “click” CuAAC es más rápida, más selectiva y más efectiva que la versión clásica térmica, pero puede presentar efectos citotóxicos por la presencia de restos del catalizador metálico. Aun así se sigue utilizando frecuentemente.
- 4- Se han desarrollado otras reacciones “click” que no precisan de catalizador, y que puede presentar las ventajas de la química “click” CuAAC, sin sus inconvenientes, pudiendo ser utilizadas en aplicaciones biológicas.
- 5- Los dendrímeros pueden tener aplicación en diferentes campos de la biomedicina, entre los que cabe destacar su utilización para la prevención y/o el tratamiento del VIH. Así, dendrímeros conteniendo residuos de triptófano o dendrímeros polianiónicos de tipo carbosilano han demostrado su actividad.

6. BIBLIOGRAFÍA

- Agard NJ, Baskin JM, Prescher JA, Lo A, Bertozzi CR. A comparative study of bioorthogonal reactions with azides. *ACS Chem Biol.* 2006;1(10):644-648.
- Antoni A, Robb MJ, Campos L, Montanez M, Hult A, Malmstrom A. Pushing the limits for Thiol–Ene and CuAAC reactions: Synthesis of a 6th generation dendrimer in a single day. *Macromolecules.* 2010;43(16):6625-6631.
- Astruc D, Liang L, Rapakousiou A, Ruiz J. Click dendrimers and triazole-related aspects: catalysts, mechanism, synthesis, and functions. A bridge between dendritic architectures and nanomaterials. *Acc Chem Res.* 2012;45(4):630-40.
- Baskin JM, Prescher JA, Laughlin ST, Agard NJ, Chang PV, Miller IA, et al. Copper-free click chemistry for dynamic in vivo imaging. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2007;104(43):16793-16797.
- Binder WH, Sachsenhofer R. Click chemistry in polymer and materials science. *Macromol Rapid Commun.* 2007; 28(1):15-54.
- Bosman AW, Janssen HM, Meijer EW. About Dendrimers: Structure, Physical Properties, and Applications. *Chem Rev.* 1999; 99(7): 1665-1688.
- Boyer JH, Moriarty R, de Darwent B, Smith PAS. *Chem Eng News.* 1964; 42(31):6.
- Buhleier E, Wehner W, Vögtle F. “Cascade” and “nonskid-chain-like” synthesis of molecular cavity topologies. *Synthesis.* 1978;9(2):155-158.
- Chaowanachan T, Krogstad E, Ball C, Woodrow KA. Drug synergy of tenofovir and nanoparticle-based antiretrovirals for HIV prophylaxis. *PLoS One* 2013;8:e61416-29.
- Cooper DA, Heera J, Ive P, Botes M, Dejesus E, Burnside R, et al. Efficacy and safety of maraviroc vs. efavirenz in treatment-naive patients with HIV-1: 5-year findings. *AIDS* 2014;28:717-25.
- De Cock KM1, Jaffe HW, Curran JW. The evolving epidemiology of HIV/AIDS. *AIDS.* 2012;26(10):1205-1213.
- Domanski DM, Klajnert B, Bryszewska M. Influence of PAMAM dendrimers on human red blood cells. *Bioelectrochemistry* 2004;63:189-91.

- Duncan R, Izzo L. Dendrimer biocompatibility and toxicity. *Adv Drug Deliv Rev* 2005;57:2215-2237.
- Dykes GM, Dendrimers: a review of their appeal and applications. *J Chem Technol Biotechnol*. 2001; 76(9):903-918.
- Eichman JD, Bielinska AU, Kukowska-Latallo JF, Baker JR Jr. The use of PAMAM dendrimers in the efficient transfer of genetic material into cells. *Pharm Sci Technol Today*. 2000;3(7):232-245.
- El Brahmī N, El Kazzouli S, Mignani S, Bousmina M, Majoral JP. Copper in dendrimer synthesis and applications of copper–dendrimer systems in catalysis: a concise overview. *Tetrahedron*. 2013;69:3103–3133.
- Ferir G, Palmer KE, Schols D. Synergistic activity profile of griffithsin in combination with tenofovir, maraviroc and enfuvirtide against HIV-1 clade C. *Virology* 2011;417:253-8.
- Franc G, Kakkar AK. "Click" methodologies: efficient, simple and greener routes to design dendrimers. *Chem Soc Rev*. 2010;39(5):1536-1544.
- Fréchet JJ, Tomalia DA. *Dendrimers and Other Dendritic Polymers Compounds*. New York: John Wiley & Sons, Ltd; 2001.
- Fuentes-Paniagua E et al. Carbosilane cationic dendrimers synthesized by thiol–ene click chemistry and their use as antibacterial agents. *RSC Adv*. 2014;4:1256-1265.
- Gao C, Yan D. Hyperbranched polymers: from synthesis to applications. *Prog Polym Sci*. 2004; 29(4):183-275.
- Galán M, Sánchez Rodríguez J, Jiménez JL, Relloso M, Maly M, de la Mata FJ et al. Synthesis of new anionic carbosilane dendrimers via thiol-ene chemistry and their antiviral behaviour. *Org Biomol Chem*. 2014;12(20):3222-3237.
- Gonzaga F, Sadowski LP, Rambarran T, Grande JB, Adronov A, Brook MA. Highly efficient divergent synthesis of dendrimers via metal-free “click” chemistry. *J Polym Sci Part A: Polym Chem*. 2013, 51, 1272–1277.
- Greish K, Thiagarajan G, Herd H, Price R, Bauer H, Hubbard D, et al. Size and surface charge significantly influence the toxicity of silica and dendritic nanoparticles. *Nanotoxicology* 2012;6:713-23.

Hawker CJ, Fréchet JMJ. Preparation of polymers with controlled molecular architecture. A new convergent approach to dendritic macromolecules. *J Am Chem Soc.* 1990; 112(21):7638-7647.

Huang B, Desai A, Zong H, Tang S, Leroueil P, Baker JR Jr. Copper-free click conjugation of methotrexate to a PAMAM dendrimer platform. *Tetrahedron Lett.* 2011;52(13):1411-1414.

Iha RK, Wooley KL, Nyström AM, Burke DJ, Kade MJ, Hawker CJ. Applications of orthogonal "click" chemistries in the synthesis of functional soft materials. *Chem Rev.* 2009;109(11):5620-86.

Jevprasesphant R, Penny J, Jalal R, Attwood D, McKeown NB, D'Emanuele A. The influence of surface modification on the cytotoxicity of PAMAM dendrimers. *Int J Pharm* 2003;252:263-6.

Jewett JC, Bertozzi CR. Cu-free click cycloaddition reactions in chemical biology. *Chem Soc Rev.* 2010;39(4):1272-9.

Johnson JA, Finn MG, Koberstein JT, Turro NJ. Construction of Linear Polymers, Dendrimers, Networks, and Other Polymeric Architectures by Copper-Catalyzed Azide-Alkyne Cycloaddition "Click" Chemistry. *Macromol Rapid Commun.* 2008; 29:1052-1072

Kade, MJ, Burke DJ, Hawker CJ. The Power of Thiol-ene Chemistry. *J Polym Sci Part A: Polym Chem.* 2010; 48(4):743-750.

Kempe K, Krieg A, Becer CR, Schubert US. "Clicking" on/with polymers: a rapidly expanding field for the straightforward preparation of novel macromolecular architectures. *Chem Soc Rev.* 2012;41(1):176-191.

Kenyon KA, Qiao L, Lee, E. Hydrogel liquid ocular bandage (OcuSeal®) is an effective microbial barrier. *Invest Ophthalmol. Visual Sci.* 2014; 55(13): 2547.

Kesharwani P, Banerjee S, Gupta U, Mohd Cairul IMA, Padhye S, Sarkar FH, et al. PAMAM dendrimers as promising nanocarriers for RNAi therapeutics. *Mater Today.* 2015; 18(10): 565-572.

Kolb HC, Finn MG, Sharpless KB. Click Chemistry: Diverse Chemical Function from a Few Good Reactions. *Angew Chem Int Ed Engl.* 2001;40(11):2004-2021.

Kottari N, Chabre YM, Shiao TC, Rej R, Roy R. Efficient and accelerated growth of multifunctional dendrimers using orthogonal thiol-ene and SN2 reactions. *Chem Commun (Camb)*. 2014;50(16):1983-5.

Li J, Swanson DR, Qin D, Brothers H.MII, Piehler L, Tomalia DA, Meier DJ. Characterizations of core-shell tecto-(dendrimer) molecules by tapping mode atomic force microscopy. *Langmuir*. 1999; 15 (21): 7347–7350.

Lowe AB. Thiol-ene “click” reactions and recent applications in polymer and materials synthesis. *Polym Chem*. 2010; 1(1):17-36.

Madaan K, Kumar S, Poonia N, Lather V, Pandita D. Dendrimers in drug delivery and targeting: drug-dendrimer interactions and toxicity issues. *J Pharm Bioallied Sci* 2014;6:139-150.

Margolis AM, Heverling H, Pham PA, Stolbach A. A review of the toxicity of HIV medications. *J Med Toxicol*. 2014;10(1):26-39.

Mitsuya H, Looney DJ, Kuno S, Ueno R, Wong-Staal F, Broder S. Dextran sulfate suppression of viruses in the HIV family: inhibition of virion binding to CD4+ cells. *Science*. 1988;240(4852):646-9.

Montañez MI, Campos LM, Antoni P, Hed Y, Walter MV, Krull BT et al. Accelerated Growth of Dendrimers via Thiol-Ene and Esterification Reactions. *Macromolecules*, 2010; 43:6004-6013.

Newkome GR, Moorefield CN, Vögtle F. *Dendrimers and Dendrons: Concepts, Synthesis, Applications*. Weinheim, Germany : Wiley-VCH; 2001. 539-562.

Newkome GR, Yao Z, Baker GR, Gupta VK. "Cascade Molecules: A New Approach to Micelles. A [27]-Arborol". *J Org*. 1985; 50(11): 2004–2006.

Ornelas C, Broichhagen J, Weck M. Strain-promoted alkyne azide cycloaddition for the functionalization of poly(amide)-based dendrons and dendrimers. *J Am Chem Soc*. 2010;132(11):3923-3931.

Rivero-Buceta E, Doyagüez EG, Colomer I, Quesada E, Mathys L, Noppen S et al. Tryptophan dendrimers that inhibit HIV replication, prevent virus entry and bind to the HIV envelope glycoproteins gp120 and gp41. *Eur J Med Chem*. 2015;106:34-43.

- Rosen BM, Lligadas G, Hahn C, Percec V. Synthesis of dendrimers through divergent iterative thio-bromo "Click" chemistry. *J Polym Sci Part A Polym Chem*. 2009;47(15):3931–3939.
- Sadowski LP, Edem PE, Valliant JF, Adronov A. Synthesis of Polyester Dendritic Scaffolds for Biomedical Applications. *Macromol Biosci*. 2016.
- Sánchez-Nieves J, Ortega P, Muñoz-Fernandez MA, Gomez R, De la Mata FJ. Synthesis of carbosilane dendrons and dendrimers derived from 1,3,5 trihydroxybenzene. *Tetrahedron* 2010;66:9203-13.
- Schlüter AD. Dendrimer with Polymeric Core in *Top. Curr Chem*. 1998; 197: 165–191.
- Sepúlveda-Crespo D, Gómez R, De La Mata FJ, Jiménez JL, Muñoz-Fernández MÁ. Polyanionic carbosilane dendrimer-conjugated antiviral drugs as efficient microbicides: Recent trends and developments in HIV treatment/therapy. *Nanomedicine*. 2015;11(6):1481-1498.
- Sepulveda-Crespo D, Lorente R, Leal M, Gomez R, De la Mata FJ, Jimenez JL, et al. Synergistic activity profile of carbosilane dendrimer G2-STE16 in combination with other dendrimers and antiretrovirals as topical anti-HIV-1 microbicide. *Nanomedicine* 2014;10:609-18.
- Shen Y, Ma Y, Li Z. *J Polym Sci Part A: Polym Chem*. Facile synthesis of dendrimers combining aza-Michael addition with Thiol-yne click chemistry. 2013; 51(3):708–715.
- Shi Y, Cao X, Gao H. The use of azide-alkyne click chemistry in recent syntheses and applications of polytriazole-based nanostructured polymers. *Nanoscale*. 2016;8(9):4864-4881.
- Son DY. A durable template for carbosilane dendrimer synthesis. *Chem Commun (Camb)* 2013;49:10209-10.
- Soršak E, Valh JV, Urek ŠK, Lobnik A. Application of PAMAM dendrimers in optical sensing. *Analyst*. 2015;140(4):976-989.
- Starpharma Holdings Ltd, 2016. VivaGel® Clinical trials. [En línea] Available at: http://www.starpharma.com/vivagel/vivagel_clinical_trials [Último acceso: Marzo 2016].

- Swart PJ, Beljaars E, Smit C, Pasma A, Schuitemaker H, Meijer DK. Comparative pharmacokinetic, immunologic and hematologic studies on the anti-HIV-1/2 compounds aconitylated and succinylated HSA. *J Drug Target*. 1996;4(2):109-116.
- Tomalia DA. Birth of a New Macromolecular Architecture: Dendrimers as Quantized Building Blocks for Nanoscale Synthetic Polymer Chemistry. *Prog Polym Sci*. 2005; 30(3-4): 294-324.
- Tomalia DA. Starburst dendrimers – nanoscopic supermolecules according to dendritic rules and principles. *Macromol. Symp*. 1996; 101(1):243–255.
- Tomalia DA, Baker H, Dewald J, Hall M, Kallos G, Martin S, Roeck J, Ryder J, Smith P. A New Class of Polymers: Starburst-Dendritic Macromolecules. *Polym J*. 1985; 17(1): 117-132.
- Tomalia DA, Fréchet, J J. Discovery of dendrimers and dendritic polymers: a brief historical perspective. *J Polym Sci A Polym Chem*. 2002; 40(16): 2719–2728.
- Tomalia DA, Swanson DR. *Dendrimers and other Dendritic Polymers*. Chichester, England: Wiley Series in Polymer Science; 2002. 617-629.
- Vacas-Cordoba E, Galan M, de la Mata FJ, Gomez R, Pion M, Munoz-Fernandez MA. Enhanced activity of carbosilane dendrimers against HIV when combined with reverse transcriptase inhibitor drugs: searching for more potent microbicides. *Int J Nanomedicine* 2014;9:3591-600.
- Volberding PA, Deeks SG. Antiretroviral therapy and management of HIV infection. *Lancet*. 2010;376(9734):49-62.
- Walter MV, Lundberg P, Hult A, Malkoch M. Novel macrothiols for the synthesis of a structurally comprehensive dendritic library using thiol-ene click chemistry. *J Polym Sci Part A*. 2011; 49:2990–2995.
- Wessig P, Budach D, Thünemann AF. Dendrimers with Oligospiroketal (OSK) Building Blocks: Synthesis and Properties. *Chemistry*. 2015;21(29):10466-10471.
- Whiting M, Muldoon J, Lin YC, Silverman SM, Lindstrom W, Olson AJ et al. Inhibitors of HIV-1 protease by using in situ click chemistry. *Angew Chem Int Ed Engl*. 2006;45(9):1435-1439.

Wittig G, Krebs A. On the existence of low-membered cycloalkynes I. *Chem Ber* 1961;94:3260-3275.

Wu P, Fokin VV. Catalytic azide-alkyne cycloaddition: reactivity and applications. *Aldrichimica Acta*. 2007;40(1):7-17.

Wu P, Feldman AK, Nugent AK, Hawker CJ, Scheel A, Voit B et al. Efficiency and fidelity in a click-chemistry route to triazole dendrimers by the copper(i)-catalyzed ligation of azides and alkynes. *Angew Chem Int Ed Engl*. 2004;43(30):3928-3932.

Wong CH, Zimmerman SC. Orthogonality in organic, polymer, and supramolecular chemistry: from Merrifield to click chemistry. *Chem Commun*. 2013;49(17):1679-1695.

Zhang Z, Feng S, Zhang J. Facile and Efficient Synthesis of Carbosiloxane Dendrimers via Orthogonal Click Chemistry Between Thiol and Ene. *Macromol Rapid Commun*. 2016;37(4):318-322.