



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL ESTADO DE MORELOS

INSTITUTO DE INVESTIGACIÓN EN CIENCIAS BÁSICAS Y APLICADAS

CENTRO DE INVESTIGACIONES QUÍMICAS

“DISEÑO Y SÍNTESIS DE PROFÁRMACOS β -LACTÁMICOS
Y SU ESTUDIO DE AUTOENSAMBLAJE EN UN
DENDRÍMERO PAMAM”

TESIS PROFESIONAL PARA OBTENER EL GRADO DE:
MAESTRÍA EN CIENCIAS

PRESENTA:

MAURICIO GALVAN SANTOYO

DIRECTOR: DR. ISRAEL GONZÁLEZ MÉNDEZ

CODIRECTOR: DRA. KENDRA IVON SORROZA MARTÍNEZ

CUERNAVACA, MORELOS

SEPTIEMBRE, 2026

Jurado asignado según el tema

Presidente: Dr. Juan Gabriel Navarrete Vázquez	FF-UAEM
Secretario: Dr. Jaime Escalante García	CIQ-UAEM
Vocal: Dr. Jesús Gracia Mora	FQ-UNAM
Suplente: Dr. Jorge Antonio Guerrero Álvarez	CIQ-UAEM
Suplente Dra. Victoria Elena González Flores	CIQ-UAEM

Candidato al grado:

LDMQ. Mauricio Galván Santoyo

Director de tesis:

Dr. Israel González Méndez

Codirectora de tesis:

Dra. Kendra I. Sorroza Martínez

*Dedicado
a mi madre Juana Ángela Santoyo Flores*

Agradecimientos

A la Universidad Autónoma del Estado de Morelos.

Al Centro de Investigaciones Químicas de la Universidad Autónoma del Estado de Morelos (CIQ-UAEM).

Al Laboratorio Nacional de Estructura de Macromoléculas (LANEM) por los estudios espectroscópicos.

A mis directores de tesis, Dr. Israel González Méndez y Dra. Kendra I. Sorroza Martínez, por su guía, enseñanzas, compromiso, seguimiento académico, por su apoyo y su gran dedicación.

A mi comité tutorial, Dra. Carolina Godoy Alcántar, Dra. Victoria E. González Flores, Dr. Jorge Antonio Guerrero Álvarez por guiarme y por sus valiosos consejos durante el desarrollo de este proyecto.

Al Dr. Carlos Amero Tello, por brindarme equipos de su laboratorio para realizar los estudios de DLS y UV.

A el personal técnico-académico del CIQ, por su compromiso y entrega en la ejecución de los análisis espectroscópicos.

A los profesores de toda mi trayectoria académica en la maestría.

A mí mamá Juana Ángela mi más grande inspiración y ejemplo, mi abuelita Olivia y mi hermano Alejandro, a mi tía Gabriela y en memoria de mi tía Laura.

A mi compañera de vida y gran amor Paola Flores, por su paciencia, consejo, admiración, paciencia, determinación y valioso amor.

El contenido de esta tesis se presentó en ellos siguientes congresos y eventos:

- En la modalidad de cartel durante la *International Conference on Polymers and Advanced Materials* “Polymat-2024”, celebrada en Huatulco, México del 20 al 25 de octubre de 2024.
- En la modalidad de cartel durante el Segundo Congreso Estatal de Materiales de Morelos, celebrado en el Instituto de Ciencias Físicas (ICF), Cuernavaca, Morelos el día 4 de abril de 2025.
- En el 29° Aniversario del Centro de Investigaciones Químicas, en la modalidad presentaciones flash, celebrado en el CIQ-UAEM, Cuernavaca, Morelos el día 7 de mayo de 2025.
- En la modalidad de póster en el 1er Simposio NANODAY, celebrado en el Centro de Investigaciones Químicas (CIQ-UAEM), Cuernavaca, Morelos el día 9 de octubre del 2025, ganando el 2do lugar en la categoría de posgrado.
- En la XX Reunión de la Academia Mexicana de Química Orgánica celebrada en la Universidad Autónoma Metropolitana, Ciudad de México del 20 al 24 de octubre de 2025 en la modalidad de cartel.
- En la modalidad de póster en el 1er Simposio IQ-CIQ, celebrado en el Centro Universitario Los Belenes, Cuernavaca, Morelos el día 27 de noviembre del 2025.



El desarrollo de este proyecto de tesis se llevó a cabo en el laboratorio 327 del Centro de Investigaciones Químicas de la Universidad Autónoma del Estado de Morelos (CIQ-UAEM) bajo la dirección del Dr. Israel González Méndez y la codirección de la Dra. Kendra I. Sorroza Martínez, contando con apoyo de la Secretaría de Ciencia, Humanidades, Tecnología e Innovación (SECIHTI) con el número de beca: **4023642**.

Contenido

Resumen.....	I
Abreviaturas	II
Índice de compuestos sintetizados	IV
CAPÍTULO I. INTRODUCCIÓN	1
1.1 Bacterias Gram positivas y Gram negativas.....	2
1.2 Resistencia bacteriana	3
1.3 Antibióticos β -lactámicos.....	4
1.4 Mecanismo de acción de los antibióticos β -lactámicos de tipo penicilina.....	5
CAPÍTULO II. ANTECEDENTES	7
2.1 Profármacos.....	8
2.2 Profármacos de tipo meropenem sensibles a pH ácido	9
2.3 Nanotecnología	11
2.4 Nanomedicina	12
2.5 Dendrímeros.....	15
2.6 Química de dendrímeros	17
2.7 Dendrímeros de tipo PAMAM.....	18
2.8 Carga de fármacos en dendrímeros	19
2.9 β -Ciclodextrina.....	20
2.10 Complejos de inclusión β -CD/huésped	21
2.11 Afinidad del adamantano por la cavidad de la β -CD	22
2.12 Química <i>click</i>	23
2.13 Química click aplicada en dendrímeros de tipo PAMAM decorados con β -CD.....	24
2.14 Química click en arquitecturas dendríticas basadas en β -CD	26
2.15 ¿Cómo ayudan los sistemas de liberación controlada de fármacos a controlar y combatir la resistencia bacteriana?.....	28
CAPÍTULO III. JUSTIFICACIÓN E HIPÓTESIS.	30
3.1 Justificación.....	31
3.2 Hipótesis.....	31
CAPÍTULO IV. OBJETIVOS.....	32
4.1 Objetivo general	33
4.2 Objetivos específicos.....	34
CAPÍTULO V. DISEÑO Y SÍNTESIS DE PROFÁRMACOS β -LACTÁMICOS DE TIPO PENICILINA Y SU CINÉTICA DE HIDRÓLISIS.	37
5.1 Síntesis de los profármacos β -lactámicos 13a-b.....	38
5.2 Caracterización de los profármacos 13a-c por RMN de ^1H	42
5.3 Espectrometría de masas de los profármacos 13a-c	44

5.4 Determinación de la cinética de hidrólisis <i>in vitro</i> de los profármacos 13a-c.....	47
5.4.1 Curvas de calibración de antibióticos β -lactámicos 12a-c	47
5.4.2 Cinética de hidrólisis de los profármacos 13a-c.....	52
CAPÍTULO VI. FORMACIÓN DE COMPLEJOS DE INCLUSIÓN DE LOS PROFÁRMACOS β -LACTÁMICOS CON β -CICLODEXTRINA.....	54
6.1 Formación de los complejos de inclusión β -CD/Profármacos 13a-c	55
6.2 Análisis de la formación de los CIs entre los profármacos 13a-c/ β -CD por RMN de efecto Overhauser (NOESY)	56
6.3 Análisis DSC/TGA de los complejos de inclusión 14a-c.....	60
6.4 Análisis del tamaño de partícula por DLS de los complejos de inclusión 14a-c.....	63
CAPÍTULO VII. SÍNTESIS DEL DENDRÍMERO PAMAM-tetra- β -CD Y SU AUTOENSAMBLAJE SUPRAMOLECULAR CON LOS PROFÁRMACOS 13a-c COMO SISTEMAS DE LIBERACIÓN DE PROFÁRMACOS β -LACTÁMICOS.....	65
7.1 Síntesis de los intermediarios mono-tosil- β -CD (15), mono-azido- β -CD (16) y PAMAM-tetra-alquino terminal (18)	66
7.2 Síntesis del dendrímero PAMAM-tetra- β -CD vía química <i>Click</i>	67
7.3 Caracterización de los intermediarios mono-tosil- β -CD (15) y mono-azido- β -CD (16) por RMN de ^1H	69
7.4 Caracterización del dendrímero PAMAM-tetra- β -CD por RMN de ^1H	72
7.5 Formación de los complejos de inclusión entre el dendrímero PAMAM-tetra- β -CD/Profármacos 13a-c	75
7.6 Análisis de los CIs del dendrímero PAMAM-tetra- β -CD/profármacos 13a-c por RMN 2D de efecto Overhauser.....	76
7.7 Análisis por DSC de los CIs 19a-c.....	82
7.8 Análisis del tamaño de partícula de los CIs 19a-c por la técnica de DLS.....	85
CAPÍTULO VIII. CONCLUSIONES.....	88
CAPÍTULO IX. SECCIÓN EXPERIMENTAL	90
9.1 Información general	91
9.2 Métodos generales.....	91
9.2.1 Preparación de revelador de KMnO_4	91
9.2.2 Preparación de S.A. pH = 1.2.....	91
9.2.3 Preparación de las cinéticas de hidrólisis	92
9.2.4 Determinación del tamaño de partícula por DLS.....	92
9.2.5 Preparación de los análisis de DSC/TGA.....	92
9.2.6 RMN de antibióticos β -lactámicos	92
9.3 Métodos sintéticos.....	93
BIBLIOGRAFÍA.....	101
ANEXO.....	106

Resumen

En la actualidad, el desarrollo de nuevas estrategias que permitan optimizar el perfil biofarmacéutico de fármacos actualmente utilizados en el tratamiento de numerosas enfermedades, ha propiciado la incorporación de la nanotecnología en las ciencias de la salud, lo cual se denomina como nanomedicina, debido a las numerosas ventajas que provee la nanotecnología en el tratamiento y diagnóstico de dichas enfermedades, pues los nanomateriales diseñados en esta escala tienen el mismo tamaño que algunas estructuras biológicas, de ahí que su aplicación *in vivo* sea apropiada, además de permitir generar estructuras que mejoren las propiedades fisicoquímicas para disminuir los efectos adversos y no deseados asociados a las formas farmacéuticas convencionales. Por otra parte, la resistencia bacteriana es uno de los problemas más difíciles de superar, este problema se ha caracterizado por el uso indiscriminado e incorrecto de fármacos, principalmente de tipo antimicrobiano. En este sentido, la resistencia bacteriana se refiere a la capacidad que poseen las bacterias de soportar los efectos de diversos agentes antimicrobianos, provocando que estas sobrevivan y continúen multiplicándose, y por consecuencia las infecciones comunes se conviertan en infecciones difíciles o imposibles de tratar con agentes microbianos convencionales.

En el capítulo V se explora el diseño y síntesis de profármacos β -lactámicos de tipo penicilina como una estrategia de química farmacéutica para la mejora de la absorción, dado el aumento de la lipofilidad, pues la incorporación de un enlace de tipo ester-carbonato con un anillo de adamantano, cuyo enlace permite tener una hidrólisis controlada por pH ácido con un perfil prolongada hasta 72 horas.

Por otra parte, en el capítulo VI se explora la formación de complejos de inclusión (CI) a través del autoensamblaje entre los profármacos β -lactámicos con la β -ciclodextrina (β -CD), aprovechando la incorporación del anillo de adamantano en la estructura de los profármacos sintetizados, que permiten una única orientación para la formación de CI en la cavidad de la β -CD con alta afinidad, dichos CIs poseen un tamaño nanométrico, así, estas plataformas pueden funcionar como plataformas de liberación controlada de fármaco mediada por pH.

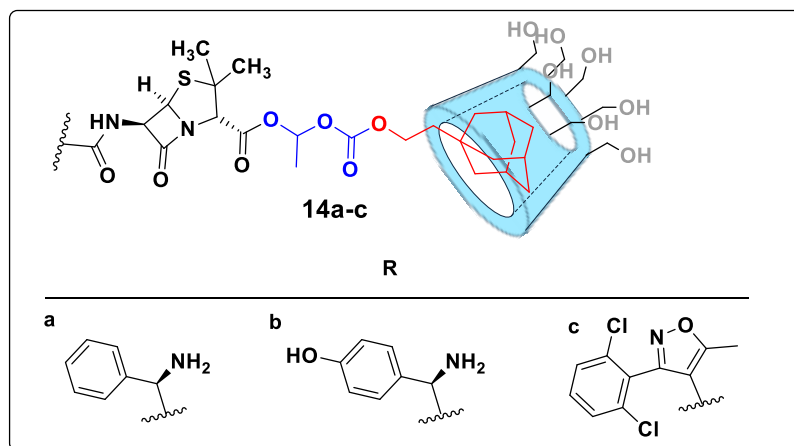
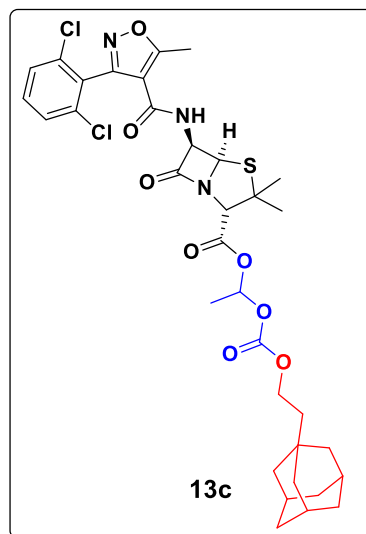
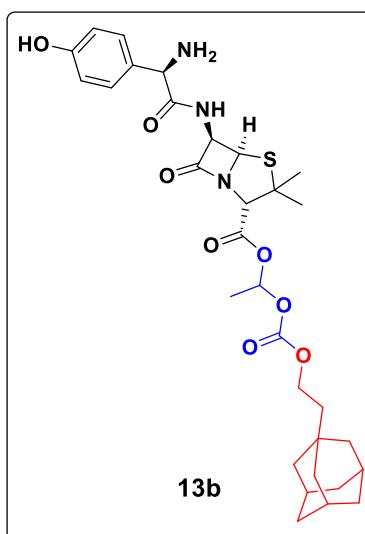
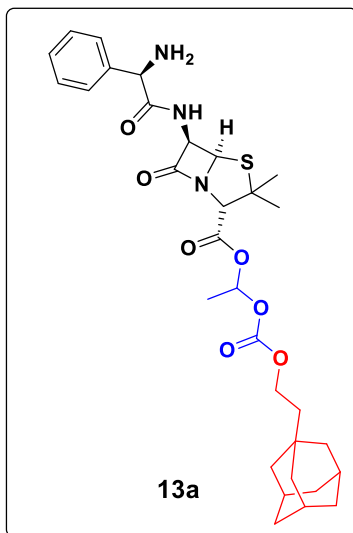
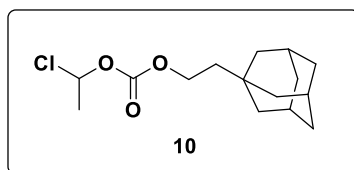
Finalmente, el capítulo VII describe el diseño y síntesis de un dendrímero tipo PAMAM-tetra- β -CD como acarreador de profármacos β -lactámicos para la liberación controlada por pH ácido y su potencial como sistema de liberación prolongada de dichos profármacos β -lactámicos. En este sentido, se explora el potencial terapéutico de estas plataformas en la mejora de las propiedades fisicoquímicas para mejorar la solubilidad acuosa y eficiencia terapéutica para el tratamiento de infecciones bacterianas.

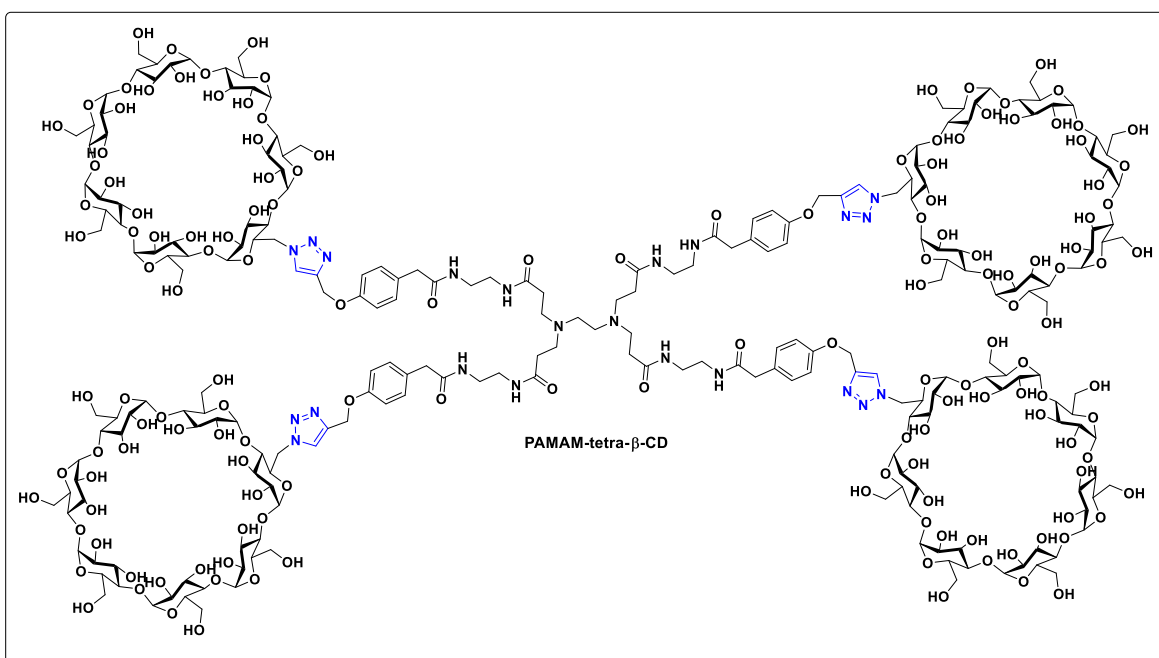
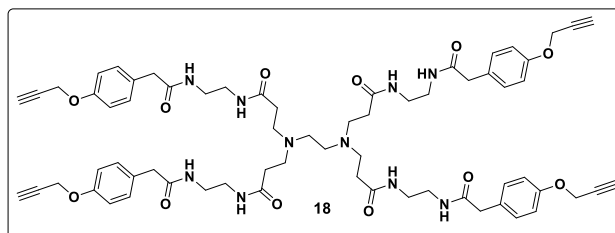
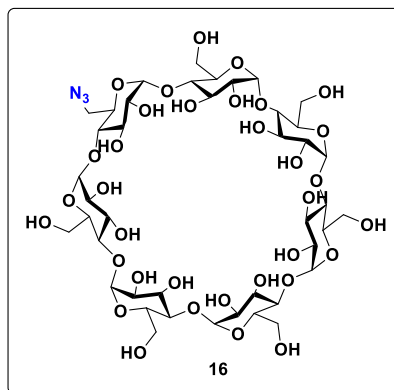
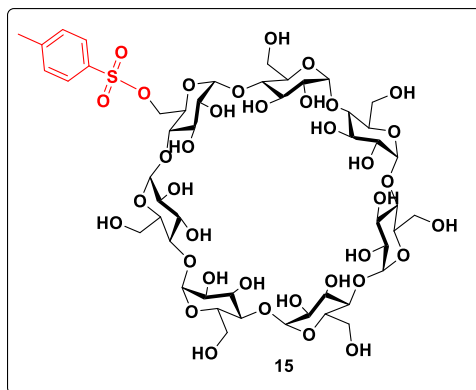
Abreviaturas

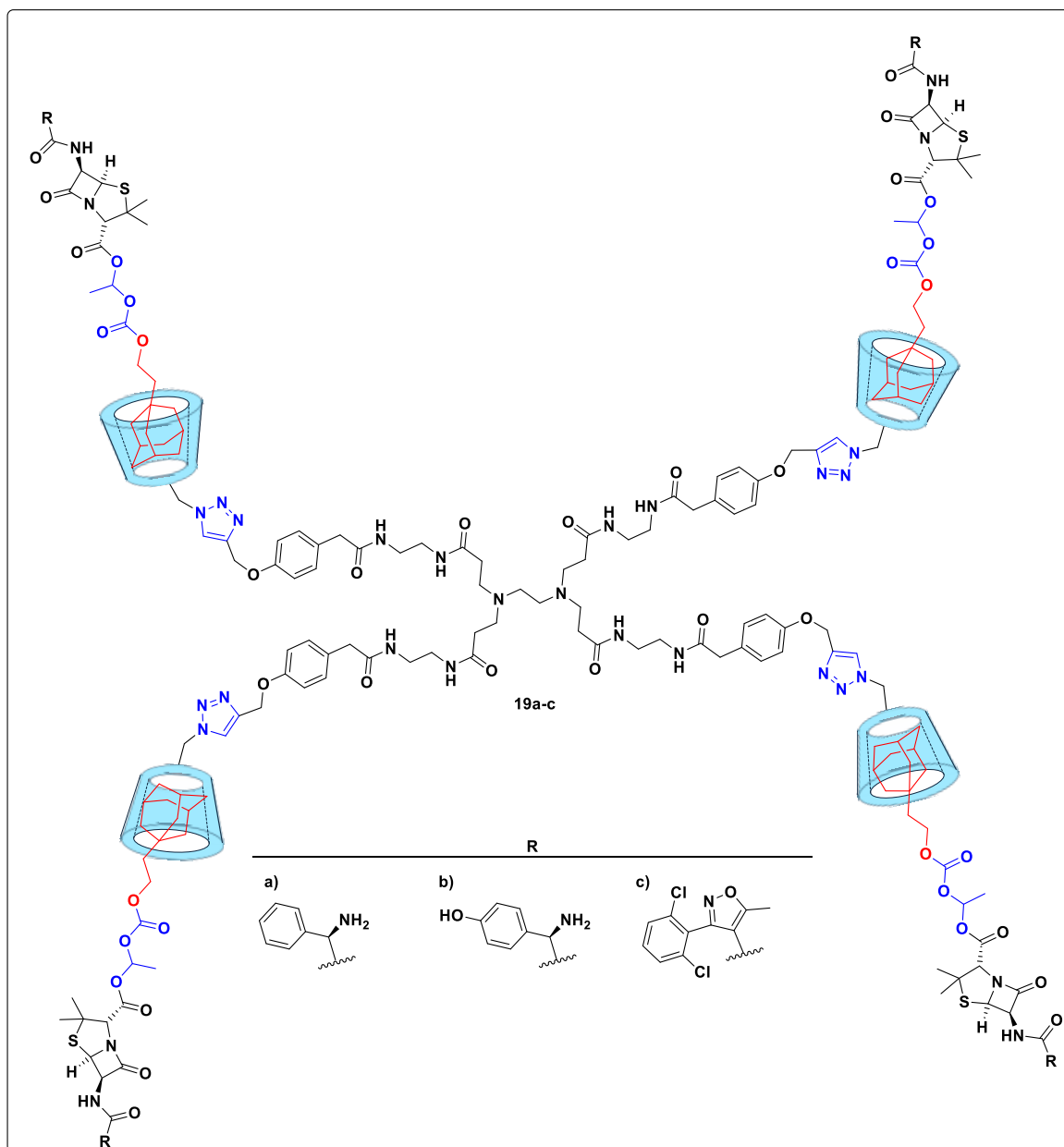
Å	Angstrom
β-CD	β-Ciclodextrina
mL	Mililitro
μL	Microlitro
d	Días
h	Horas
g	Gramo
Me	Metilo
Ac	Acetilo
Ad	Adamantano
Eq	Equivalente/Equivalentes
Cuant	Cuantitativo
D-Ala	D-Alanina
PBPs	<i>Penicillin-Binding Proteins</i>
CH ₂ Cl ₂	Diclorometano
CDCl ₃	Cloroformo
DMSO	Dimetilsulfóxido
DMF	Dimetilformamida
H ₂ O	Agua
DIPEA	<i>N, N</i> -Diisopropiletilamina
MeOH	Metanol
PAMAM	Poliamidoamina
PPI	Polipropilamina
PEHAM	Poliéster hidroxilamina
PEA	Poliéster acrilato/amina
EDC·HCl	Clorhidrato de 1-etil-3-(3-dimetilaminopropil) carbodiimina
HOBt	Hidroxibenzotriazol
MTX	Metotrexato
SN2	Sustitución Nucleofílica Bimolecular
CBS	Reducción de Corey-Bakshi-Shibata
pH	Potencial de Hidrógeno
nm	Nanómetros
M	Molaridad/Molar
mM	Milimolar
μM	Micromolar
mmol	Milimoles
N	Normalidad/Normal
THF	Tetrahidrofurano

°C	Grados Celsius
t.a	Temperatura Ambiente
CI	Complejo de Inclusión
MF	Mezcla física
DSC	<i>Differential Scanning Calorimetry</i>
TGA	<i>Thermogravimetric Analysis</i>
SEM	<i>Scanning Electron Microscopy</i>
UV-vis	Ultravioleta-Visible
<i>A</i>	Absorbancia
ϵ	Coeficiente de Extinción Molar
<i>C</i>	Concentración
<i>l</i>	Longitud de la Celda
λ	Longitud de Onda
FTIR	Infrarrojo por transformada de Fourier
HRMS	<i>High Resolution Mass Spectrometry</i>
LRMS	<i>Low Resolution Mass Spectrometry</i>
DLS	<i>Dynamic Light Scattering</i>
RMN	Resonancia Magnética Nuclear
CDCl ₃	Cloroformo deuterado
DMSO- <i>d</i> ₆	Dimetil sulfóxido deuterado
D ₂ O	Agua deuterada
TMS	Tetrametilsilano
RMN de ¹ H	Resonancia Magnética Nuclear de Protón/Hidrógeno
RMN de ¹³ C	Resonancia Magnética Nuclear de Carbono trece
DEPTQ	<i>Distortionless Enhancement by Polarization</i> <i>Transfer with Quaternary detection</i>
HSQC	<i>Heteronuclear Single Quantum</i> <i>Coherence Spectroscopy</i>
NOESY	<i>Nuclear Overhauser Effect Spectroscopy</i>
d	Doblete en espectro de RMN de ¹ H
dd	Doble de dobles en espectro de RMN de ¹ H
m	Multiplete en espectro de RMN de ¹ H
q	Quintuplete en espectro de RMN ¹ H
t	Triplete en espectro de RMN de ¹ H
s	Singlete en espectro de RMN de ¹ H
δ	Desplazamiento químico en RMN de ¹ H
<i>J</i>	Constante de acoplamiento en RMN de ¹ H
Hz	Hertz
ppm	Partes por millón
TLC	Cromatografía en Capa Fina
m/z	Relación masa/carga

Índice de compuestos sintetizados







CAPÍTULO I. INTRODUCCIÓN

1.1 Bacterias Gram positivas y Gram negativas

Las bacterias son microorganismos unicelulares procariotas, es decir, carecen de tener un núcleo definido, que se encuentran en casi todos los ambientes de la tierra, incluyendo en el cuerpo humano. Estas, se clasifican en Gram positivas y Gram negativas con base en la tinción de Hans Christian Gram, la cual refleja diferencias fundamentales en la arquitectura de la envoltura celular. Las bacterias Gram positivas (**Figura 1A**) poseen una pared celular gruesa compuesta principalmente por peptidoglucano (mureína), con ácidos teicoicos y lipoteicoicos, pero carecen de membrana externa. Esta estructura permite que retengan el cristal violeta durante la tinción, observándose de color púrpura al microscopio. Ejemplos clínicamente relevantes incluyen especies de *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus pneumoniae* y *Enterococcus faecalis*.¹

En contraste, las bacterias Gram negativas (**Figura 1B**) presentan una pared celular más compleja y delgada, con una capa fina de peptidoglucano localizada en el espacio periplásmico y una membrana externa adicional que contiene lipopolisacárido (LPS), fosfolípidos y proteínas tipo porina. Esta membrana externa actúa como una barrera fisicoquímica frente a numerosos agentes antimicrobianos, y es responsable de que estas bacterias no retengan el cristal violeta de la tinción, y se tornen de color rosado. Entre los ejemplos más relevantes se encuentran *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa* y *Klebsiella pneumoniae*, patógenos frecuentemente implicados en infecciones urinarias, respiratorias y sistémicas.

Desde el punto de vista de la resistencia antimicrobiana, las diferencias estructurales son determinantes. En bacterias Gram positivas, el blanco principal de los antibióticos β -lactámicos es la síntesis del peptidoglucano mediada por proteínas fijadoras de penicilina (PBPs), mientras que en bacterias Gram negativas, además de la producción de β -lactamasas (enzimas que degradan a los antibióticos β -lactámicos), la presencia de la membrana externa, la disminución o modificación de porinas y la sobreexpresión de bombas de eflujo confieren una resistencia intrínseca y adquirida más compleja y multifactorial.²

En conjunto, la distinción entre bacterias Gram positivas y Gram negativas no solo es taxonómica y morfológica, sino que tiene implicaciones terapéuticas críticas, ya que condiciona la selección de antibióticos, la penetración del fármaco, la susceptibilidad intrínseca y los mecanismos moleculares de resistencia (**Figura 1**).

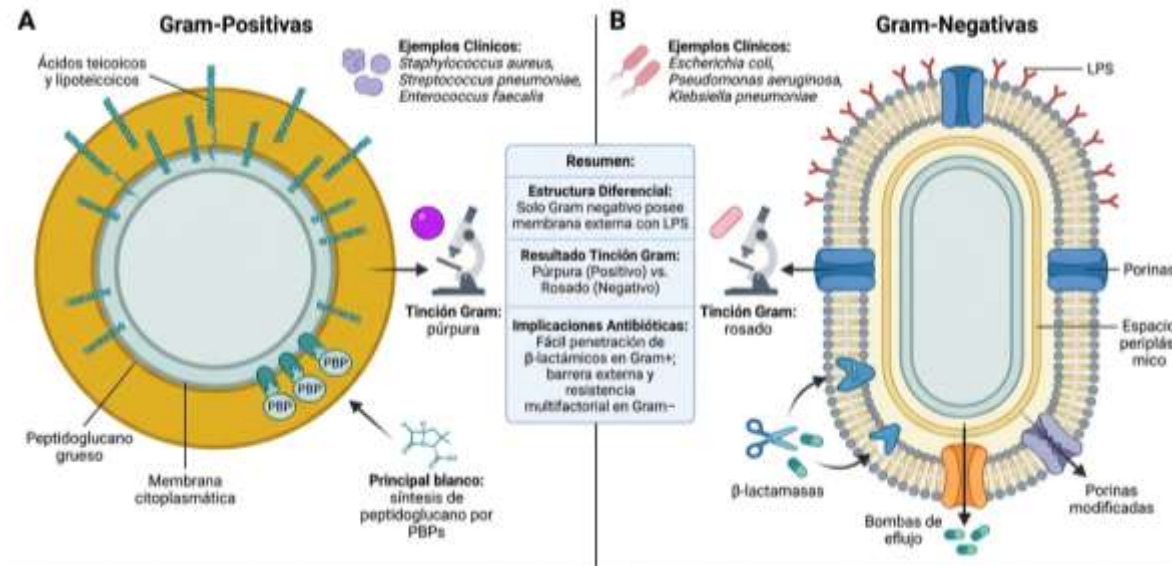


Figura 1. Diferencia entre tipos de bacterias.

1.2 Resistencia bacteriana

Se refiere a la capacidad de las bacterias para resistir los efectos de los antibióticos y otros agentes antimicrobianos, haciendo que los fármacos sean menos efectivos o incluso provocando que sean ineficaces. Esta resistencia surge principalmente a través de mecanismos evolutivos y de adaptación, donde las bacterias desarrollan mutaciones o adquieren genes de resistencia mediante transferencia horizontal, es decir que las bacterias adquieren genes de resistencia de otras bacterias sin necesidad de ser descendientes directas de ellas, lo que en consecuencia provoca que una bacteria que no era resistente a ciertos antibióticos desarrolle resistencia al “adquirir” material genético que contiene genes de resistencia y por consiguiente sobrevivir en presencia de antibióticos.^{3,4} Existen varios mecanismos mediante los cuales las bacterias desarrollan resistencia:

- 1) **Modificación de la diana terapéutica del antibiótico:** se refiere a cambios en las estructuras que el antibiótico intenta atacar, como las proteínas o las enzimas, lo que impide que el fármaco se una o inhiba la función bacteriana.⁵
- 2) **Enzimas que degradan o modifican el antibiótico:** bacterias como *E. coli* producen enzimas como las β -lactamasas, que funcionan abriendo el anillo β -lactámico lo que causa la pérdida de la actividad biológica de este tipo de antimicrobianos.⁶
- 3) **Expulsión activa del antibiótico:** las bombas de eflujo expulsan activamente el antibiótico fuera de la bacteria, disminuyendo su concentración interna y su efectividad.⁷

- 4) Baja permeabilidad de la membrana: algunas bacterias desarrollan membranas menos permeables al antibiótico, es decir, la propiedad de las membranas celulares que permite el paso de solventes y solutos hacia dentro y fuera de la bacteria, evitando la entrada de los fármacos.³

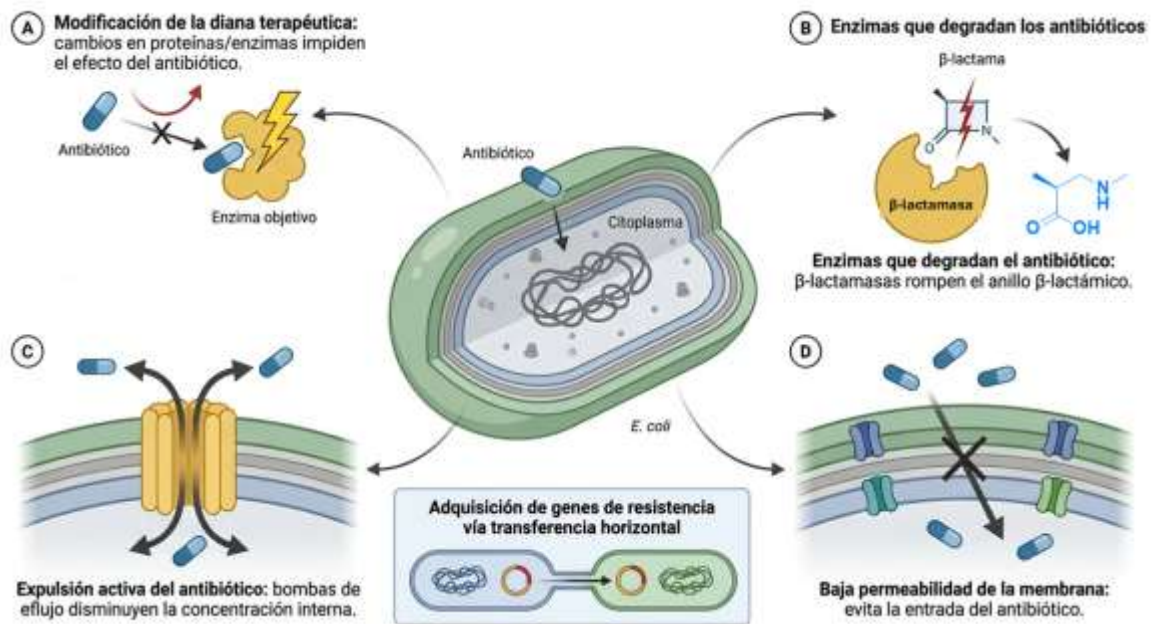


Figura 2. Ilustración de los mecanismos de resistencia bacteriana.

1.3 Antibióticos β -lactámicos

Los antibióticos β -lactámicos constituyen una amplia e importante familia de antibióticos comúnmente utilizados en el tratamiento de infecciones bacterianas alrededor del mundo,⁸ ya que estos son los de primera elección, además de ofrecer múltiples ventajas, como ser de amplio espectro para bacterias Gram positivas y negativas, presentar baja toxicidad, accesibilidad en términos económicos y de formas farmacéuticas, y poseen un mecanismo específico de acción,⁹ sin embargo, dentro de sus principales inconvenientes se encuentra su pobre solubilidad acuosa, su limitada absorción oral alrededor del 30% y altas dosificaciones asociadas a su baja solubilidad, lo que provoca efectos adversos no deseados: problemas gastrointestinales como náuseas o malestar abdominal, sumado a erupciones cutáneas y diarrea.¹⁰

Su denominación proviene de la estructura molecular, en donde comparten en su estructura a una β -lactama, fundamental para la actividad bactericida, debido a que estos antibióticos actúan inhibiendo la síntesis de la pared celular bacteriana, lo que resulta en su muerte. Las

penicilinas fueron los primeros β -lactámicos y por ende los más antiguos, sin embargo, siguen siendo muy efectivos contra infecciones causadas por bacterias Gram positivas y negativas, algunos ejemplos incluyen a la amoxicilina y ampicilina. Por otra parte, las cefalinas o cefalosporinas se diferencian de las penicilinas por poseer un anillo de 6 miembros y están divididas en generaciones con espectros de actividad cada vez más amplios, se utilizan comúnmente para tratar infecciones del tracto respiratorio, urinario, meningitis, septicemias entre otras. No obstante, los carbapenémicos poseen un espectro ultra largo de acción y son eficaces frente a muchas bacterias multirresistentes, este tipo de β -lactámicos se reservan para tratar infecciones graves y complicadas. Finalmente, los clavulatos no son antibióticos en sí mismos, sino que poseen actividad inhibitoria de β -lactamasas, es decir, inhiben a las enzimas encargadas de degradar al anillo β -lactámico de los antibióticos, comúnmente se administran junto a penicilinas para protegerlas de la degradación enzimática ampliando su espectro de acción (**Figura 1**).^{11, 12}

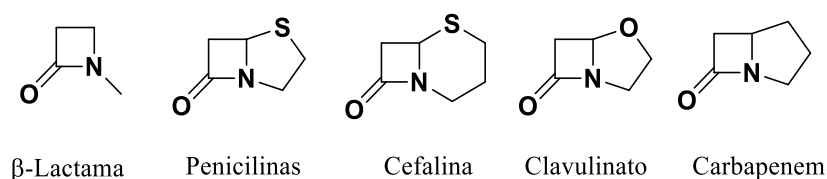


Figura 3. Tipos de antibióticos β -lactámicos.

Por ello, el uso de los antibióticos β -lactámicos abarca una gran variedad de opciones para tratar infecciones bacterianas. Sin embargo, el uso indiscriminado de estos fármacos en conjunto con mecanismos evolutivos y de adaptación ha favorecido la aparición de cepas bacterianas resistentes, lo que subraya la importancia de su prescripción adecuada bajo supervisión médica.

1.4 Mecanismo de acción de los antibióticos β -lactámicos de tipo penicilina

El mecanismo de acción de este tipo de antibióticos ha sido ampliamente estudiado a lo largo de su uso clínico, lo que ha resultado en una descripción sumamente detallada en su interferencia con la síntesis de la pared celular bacteriana, provocando la muerte de la bacteria, dada la especificidad con la que actúan estos antibióticos, lo cual garantizó su éxito comercial y uso clínico.¹³

En su naturaleza estructural, el anillo β -lactámico o β -lactama es indispensable para su acción, el principal blanco son las bacterias en crecimiento activo, específicamente las que sintetizan pared celular basada en peptidoglicano, es decir, una estructura esencial que rodea la membrana citoplasmática de múltiples bacterias, proporcionando rigidez y resistencia a la presión osmótica. No obstante, la síntesis del peptidoglicano implica la polimerización y especialmente, el entrecruzamiento de cadenas peptídicas (transpeptidación) de cadenas peptídicas, un proceso llevado a cabo mediante enzimas específicas llamadas proteínas

fijadoras de penicilina, mejor conocidas por sus siglas en inglés: *Penicillin Binding Proteins* (PBPs), las cuales presentan actividades de transpeptidasa, transglucosilasa y carboxipeptidasa.¹³

En esencia, el anillo β -lactámico de los antibióticos de tipo penicilinas simula estructuralmente el grupo terminal D-ala-D-ala del precursor peptídico del peptidoglicano, que es el sustrato normal de las PBPs (ver sección A en **figura 4**), por consecuencia al mimetizar este sustrato, las penicilinas se unen irreversiblemente al sitio activo de las PBPs, particularmente a las transpeptidasas, pues el residuo de aminoácido de Serina ataca al anillo β -lactámico formando un aducto covalente que bloquea la formación de los puentes peptídicos entre el residuo de Serina y residuos de Glicina de cadenas pépticas necesarias para la rigidez y resistencia de la pared bacteriana, por lo cual, la inhibición de las PBPs, detiene la síntesis y remodelación del peptidoglicano, como resultado, la pared bacteriana se vuelve defectuosa y las bacterias, incapaces ahora de soportar la presión osmótica sufren lisis y muerte celular (ver sección B en **figura 4**).^{14, 15}

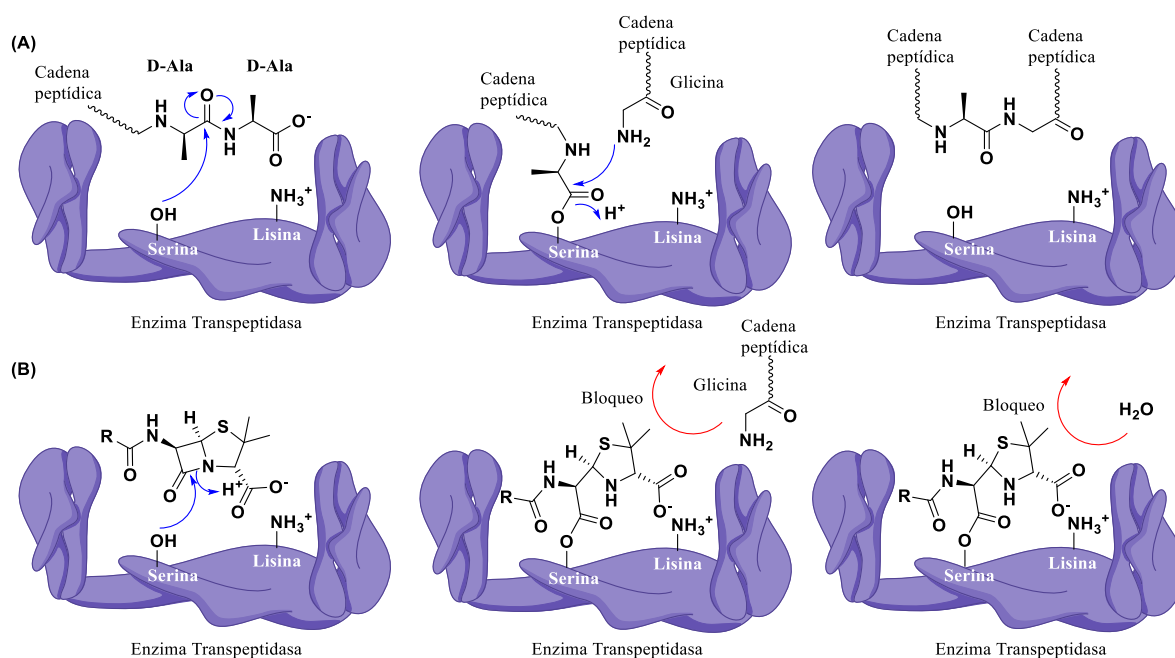


Figura 4. Mecanismo de inhibición enzimática de la transpeptidasa bacteriana por β -lactámicos.

CAPÍTULO II. ANTECEDENTES

2.1 Profármacos

Los profármacos se definen como moléculas que carecen de actividad farmacológica y que necesitan de reacciones metabólicas en el cuerpo para generar la molécula con actividad biológica,^{16, 17, 18} se clasifican como: i) Profármacos ligados a transportador: diseñados para aprovechar transportadores biológicos específicos, como transportadores de aminoácidos, péptidos o glucosa, con el objetivos de mejorar la absorción y distribución ii) Bioprecursores: son moléculas estructuralmente inactivas hasta que se transforman en el principio activo mediante procesos enzimáticos o químicos en el cuerpo, iii) Profármacos duales: también conocidos como *codrugs*, son dos fármacos activos químicamente unidos por un enlace covalente, formando un profármaco único, que al metabolizarse se generan ambas moléculas activas, iv) Profármacos poliméricos: son fármacos unidos covalentemente a polímeros naturales o sintéticos, en dicha unión se mejoran características como la solubilidad, estabilidad o liberación controlada de fármaco.^{19, 20}

Algunos profármacos comercialmente disponibles incluyen al (A) Omeprazol, profármaco de tipo bioprecursor que funciona como un inhibidor de la bomba de protones, utilizado para el tratamiento de enfermedades ácido-peptídicas como el reflujo gastroesofágico. En su forma inactiva sufre una activación metabólica en el hígado mediada por la enzima CYP2C19, en la que el grupo sulfóxido es reducido, lo que genera un metabolito activo con el efecto terapéutico, mientras que la (B) Levodopa es un profármaco de tipo ligado a transportador, que se metaboliza en la dopamina, un neurotransmisor esencial utilizado para el tratamiento de Parkinson, el cual es metabolizado por la enzima L-aminoácido aromático descarboxilasa que cataliza la eliminación de grupo carboxilo, generando a la dopamina activa (**Figura 5**).

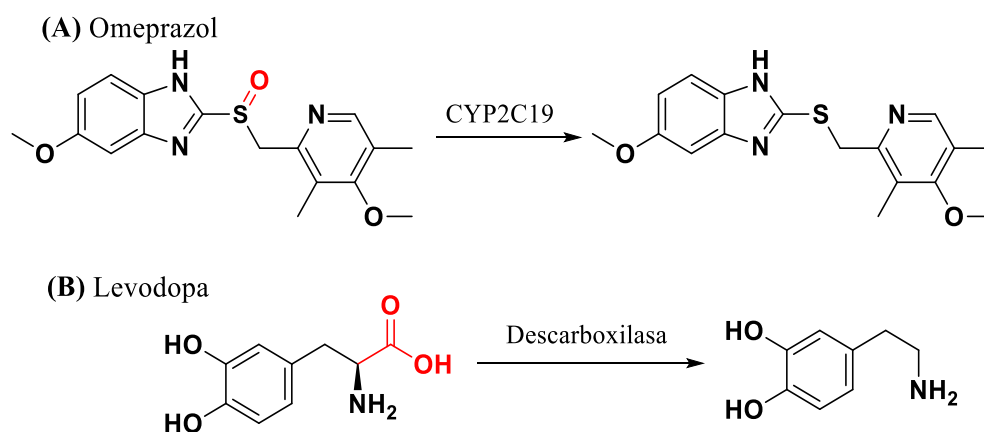


Figura 5. Ejemplos de profármacos comercialmente disponibles.

En este contexto, la química farmacéutica moderna ha implementado el desarrollo de profármacos como una estrategia innovadora y oportuna para solventar los inconvenientes asociados a los antibióticos β -lactámicos comercialmente disponibles, previamente descritos, destacando la baja solubilidad acuosa y limitada absorción oral. Ejemplo de éxito, son los

profármacos comercialmente disponibles de la ampicilina: sultamicilina y becampicilina, mismos que fueron desarrollados para mejorar su absorción oral y simultáneamente mejorar su biodisponibilidad respecto a la ampicilina convencional.²¹ En primera instancia, la sultamicilina combina de manera covalente a la ampicilina y al sulbactam (inhibidor de β -lactamasas) formando un di-éster, dicha combinación no solo mejora la absorción digestiva de la ampicilina, sino que también amplía el espectro de acción del antibiótico por acción del sulbactam al protegerlo de la degradación enzimática de las β -lactamasas, al administrarse vía oral, la Sultamicilina se hidroliza y libera a ambos componentes activos en el torrente sanguíneo. Por otra parte, la becampicilina, también es un profármaco de la ampicilina, que de igual forma se hidroliza tras su absorción intestinal, liberando a la ampicilina en torrente sanguíneo, de esta manera se consiguen niveles plasmáticos más elevados con mejor absorción (**Figura 6**).²²

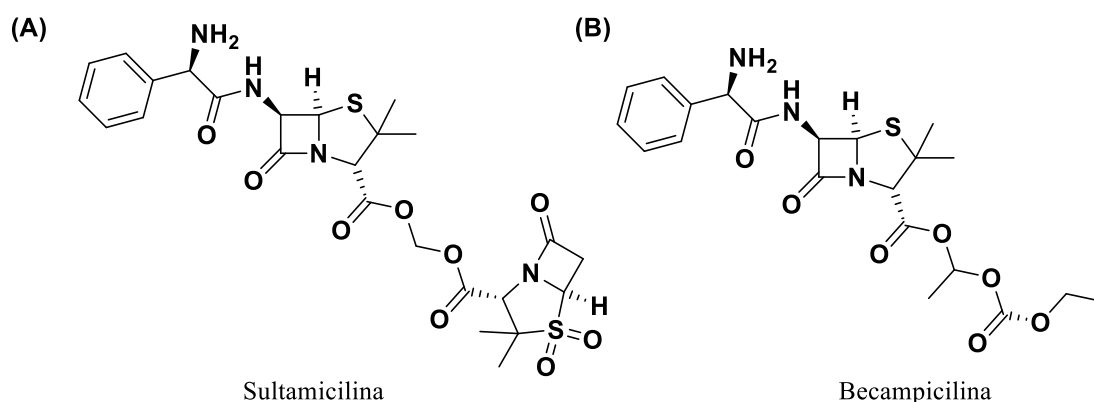


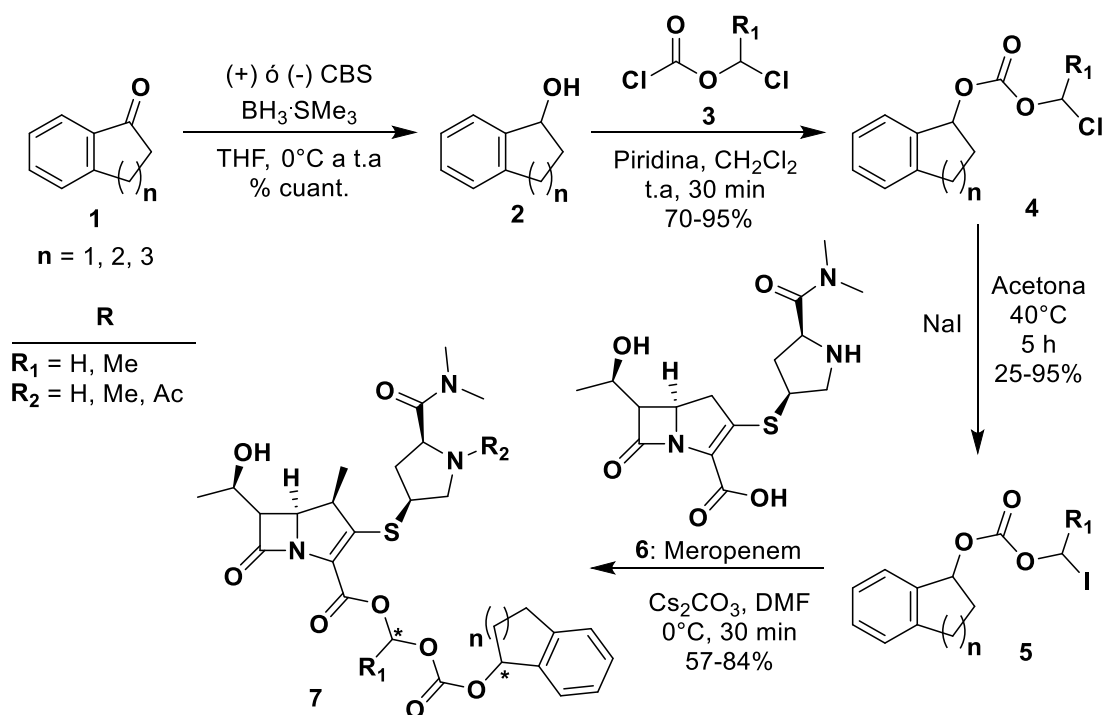
Figura 6. Ejemplos profármacos β -lactámicos de tipo penicilina comercialmente disponibles.

2.2 Profármacos de tipo meropenem sensibles a pH ácido

Por otra parte, el diseño de profármacos representa una estrategia innovadora para mejorar las propiedades farmacocinéticas y farmacodinámicas de los principios activos comercialmente disponibles. Una estrategia recurrente, consiste en modificar grupos funcionales de los fármacos para modular su liberación empleando enlaces químicos que puedan ser escindibles de manera enzimática o químicamente en un ambiente *in vivo*. Tal es el caso de los antibióticos β -lactámicos de tipo carbapenem, como el meropenem, un antibiótico de amplio espectro con alto valor clínico, pero con marcadas limitaciones de estabilidad y biodisponibilidad. Profármacos del meropenem han ampliado su aprovechamiento terapéutico y versatilidad de formulación.²³

La síntesis química de algunos profármacos de meropenem, incluyen en su estructura un estercarbonato, un enlace escindible a pH ácido, así como benzocetonas para aumentar la lipofilidad en la estructura química. Dicha síntesis comienza con la reducción asimétrica de Corey-Bakshi-Shibata de las benzocetonas **1** mediante el reactivo (+) CBS o (-) CBS en presencia de $\text{BH}_3\cdot\text{SMe}_3$, empleando THF como disolvente, llevando un gradiente de

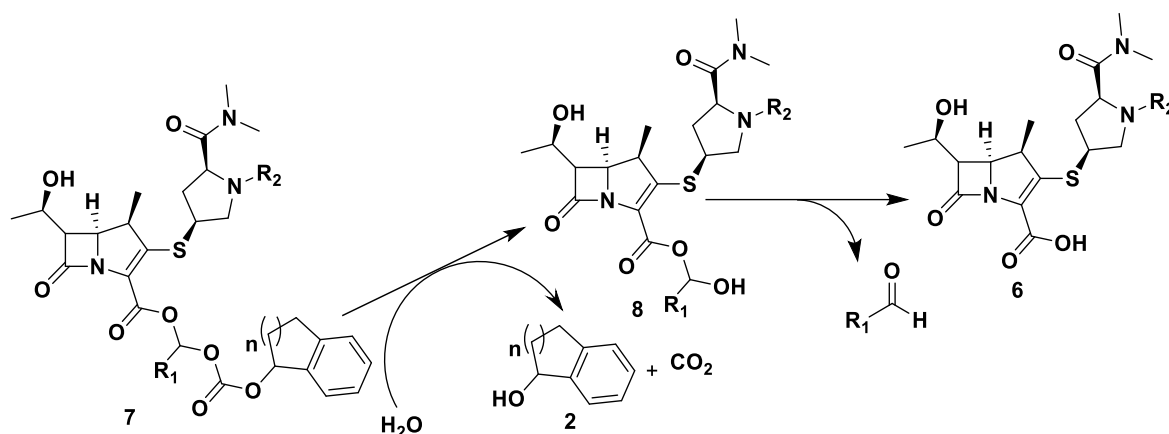
temperatura de 0°C hasta temperatura ambiente, para obtener de esta manera a los correspondientes hidroxilos **2** en rendimientos cuantitativos y con alta selectividad enantiomérica según el isómero de CBS empleado. Posteriormente, a los hidroxilos **2** obtenidos se les hizo reaccionar con los cloroformatos **3**, donde $R_1 = H$ o Me, utilizando piridina en CH_2Cl_2 a temperatura ambiente durante 30 minutos para obtener a los cloro-benzocarbonatos **4** con rendimientos químicos entre 70-95%, para posteriormente someterlos a una reacción de *Finkelstein*, reemplazando el halógeno cloro por yodo vía un mecanismo SN_2 para obtener a los yodo-benzocarbonatos **5** en acetona como disolvente, obteniendo rendimientos químicos entre 25-95%. Finalmente, los yodo-benzocarbonatos **5** obtenidos en el paso anterior se hicieron reaccionar con el β -lactámico de meropenem **6** en presencia de Cs_2CO_3 empleando DMF como disolvente a 0°C durante 30 minutos, de esta manera, se obtuvieron los correspondientes profármacos de meropenem **7** vía una reacción de esterificación, siendo $R_2 = H$, Me o Ac, modulando las propiedades específicas de los profármacos. Esta ruta de síntesis enfatiza los principios de la química farmacéutica moderna: el uso racional de la quimio-esterero-selección, protección y activación funcional, para generar derivados de mejor desempeño clínico, liberando el meropenem en pH ácido, lo que aporta liberación controlada y mejora la eficacia del tratamiento (**Esquema 1**).²³



Esquema 1. Ruta de síntesis de profármacos sensibles a pH ácido de Meropenem.

Este diseño responde a una activación bajo condiciones fisiológicas, y principalmente por acción de agua/pH ácido y catalizado por esterasas del cuerpo humano. Los autores de dicho trabajo sugieren el mecanismo de hidrólisis de los profármacos de meropenem **7**, en donde el grupo funcional del carbonato es hidrolizado por ataque nucleofílico del agua, lo que

genera como productos; CO_2 y a los correspondientes hidroxilos **2** y al meropenem **8** con un grupo hemiacetal, el cual es transformado al propio meropenem **9** para generar el efecto terapéutico deseado y simultáneamente generar el correspondiente aldehído como subproducto, como consecuencia este diseño provee mayor estabilidad plasmática y gástrica (**Esquema 2**).^{23, 24}



Esquema 2. Mecanismo de hidrolisis propuesto de los profármacos de Meropenem.

2.3 Nanotecnología

La nanotecnología se refiere al estudio, creación, manipulación y comportamiento de materiales a una escala nanométrica (1×10^{-9} m), se apoya de diversos campos de estudio, lo que permite diseñar y preparar nuevas nanoestructuras con propiedades y funciones específicas para diversas aplicaciones en electrónica, industria de alimentos, diagnóstico y medicina. Manipular la materia en esta escala responde a que la materia adquiere diferente comportamiento, debido a que se observan múltiples fenómenos que se vuelven significativamente relevantes en comparación con escalas macrométricas en donde no son relevantes, pues comienzan a notarse los efectos cuánticos de la materia, aunado al hecho que la relación superficie volumen de las nanoestructuras en esta escala permite que una cantidad significativa de átomos se encuentre en la superficie de dichas estructuras y por consiguiente dominen el comportamiento, reactividad e interacciones con la materia de su entorno.²⁵

La **Figura 7** muestra una escala en metros que representa diferentes tamaños de objetos, clasificados desde la macroescala hasta la escala atómica, los fenómenos físicos que rigen a dichas escalas y los medios en los que se puede percibir a las estructuras que se encuentre en dichos rangos de tamaño, particularmente en la nanoescala, las estructuras representativas incluyen, virus, nanofibras y moléculas biológicas como el ADN, que son regidas por los fenómenos de la mecánica cuántica

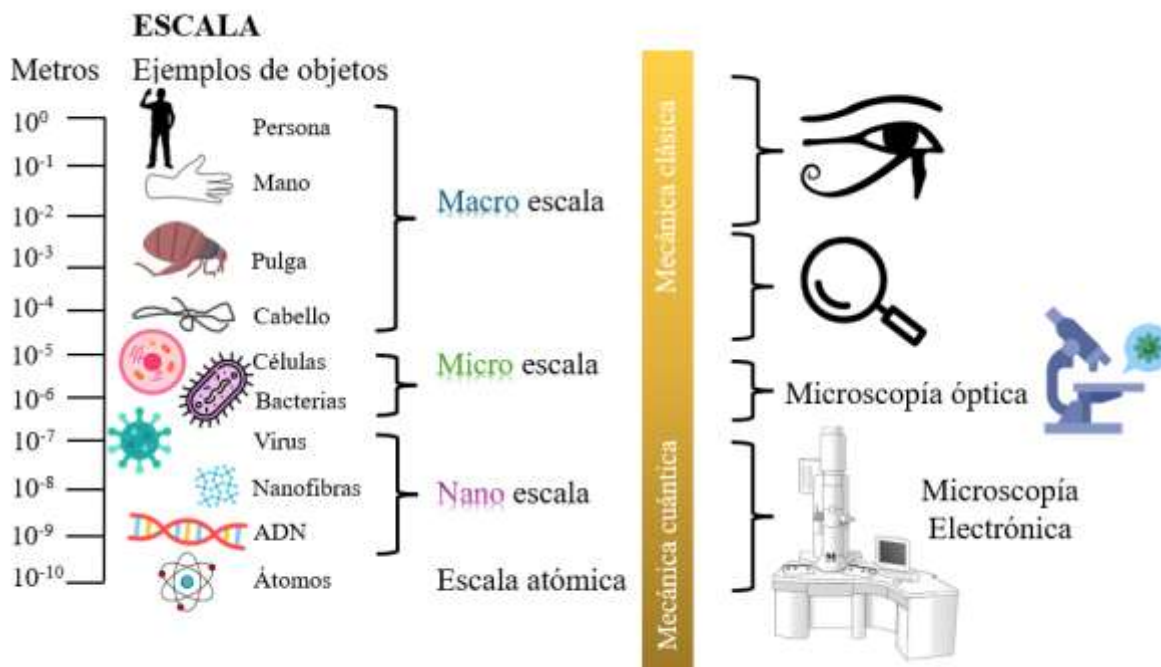


Figura 7. Representación gráfica de distintas escalas.

2.4 Nanomedicina

A la aplicación de la nanotecnología en el ámbito médico se le denomina nanomedicina, pues aprovecha el tamaño de los nanomateriales en la prevención, diagnóstico y tratamiento de enfermedades, ya que poseen el mismo tamaño que algunas moléculas biológicas, haciéndolas adecuadas para aplicaciones *in vivo*, por lo que los nanomateriales son utilizados para detectar y ser dirigidos hacia células o proteínas específicas en el cuerpo humano. Estos novedosos sistemas pueden ser diseñados para responder a estímulos externos o internos, pueden dirigirse a un tejido o célula específica y entregar la carga terapéutica. En ese sentido, la construcción y desarrollo de nanotransportadores de fármacos como liposomas, micelas, nanopartículas de oro y dendrímeros permiten tener diferentes aplicaciones biológicas cuya principal ventaja es su tamaño y versatilidad para su modificación estructural. En este sentido, dichos nanomateriales son denominados como nanoacarraeadores de fármacos ya que aprovechan el tamaño nanométrico para mejorar la eficacia, seguridad y administración de principios activos, pues permiten interactuar con estructuras biológicas de una manera más específica y selectiva. Estos nanoacarraeadores de fármacos pueden clasificarse de acuerdo con la **Figura 8**, en donde podemos observar a los liposomas, partículas poliméricas, dendrímeros, nanocristales, partículas de oro, sílice y basados en proteínas, éstos nanoacarraeadores de fármacos pueden ser utilizados para controlar la liberación espacio-temporal de uno o más principios activos.^{26, 27}

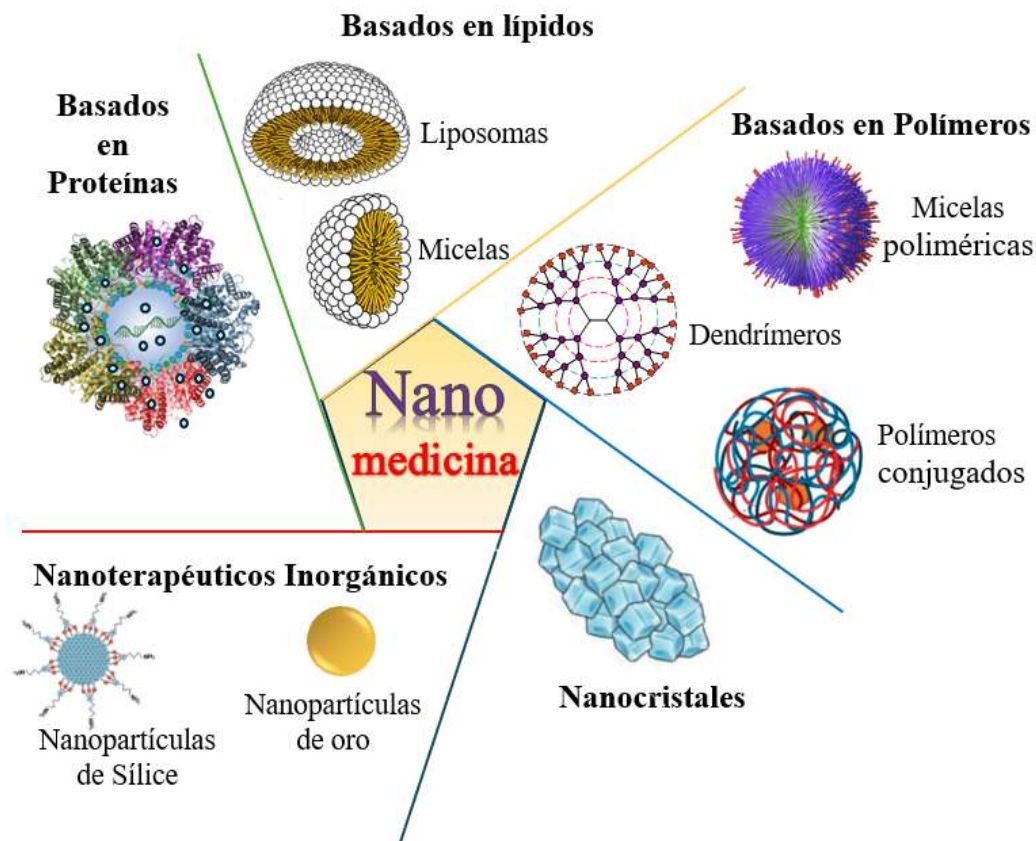


Figura 8. Clasificación de los nanoterapéuticos.

Dichos nanoacarraeadores de fármacos, al ser utilizados como transportadores de fármacos hacia una diana farmacológica específica del cuerpo humano, permiten liberar a los principios activos de una forma previamente diseñada, lo que se traduce macroscópicamente en un aumento en la eficacia del tratamiento y permite una reducción de los efectos secundarios no deseados, mejorando aspectos como la baja absorción del fármaco, biodisponibilidad y biocompatibilidad.

En este sentido, la liberación controlada de fármacos en una escala nanométrica es una tecnología que implementa la nanomedicina para dirigir fármacos de una manera más eficaz y específica. Un acarreador de fármacos en conjunto con el tamaño nanométrico y forma específica de liberación del fármaco se le denomina sistema de liberación controlada, ya que la forma y momento son controlados desde el diseño del nanoterapéutico, no obstante, la liberación del fármaco abarca 3 características fundamentales.²⁷

1. Tamaño nanométrico: se refiere al tamaño del acarreador que le brinda la capacidad a una nanoestructura para interactuar con tejidos biológicos de manera más eficiente y alcanzar sitios específicos en el cuerpo.
2. Liberación controlada: se refiere al estímulo con que un fármaco se libera, ya sea a través de la modulación de la temperatura, ultrasonido, luz, campo magnético, radiación o pH (**Figura 9**).²⁸

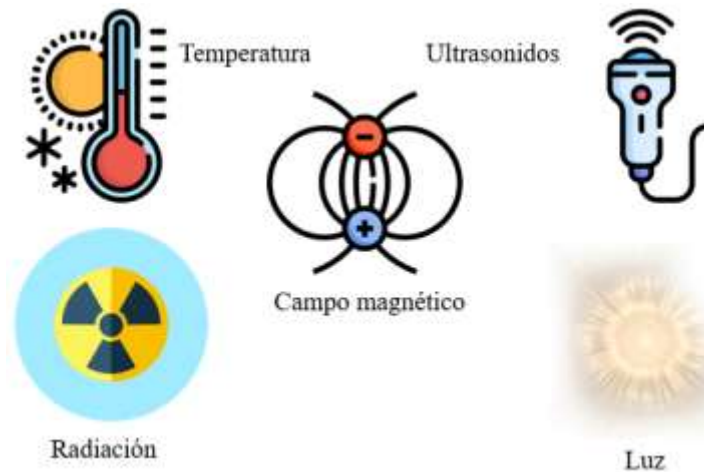


Figura 9. Liberación de fármacos modulada por estímulos.

3. Direccionamiento activo: existen de 2 tipos, el **direccionamiento pasivo**, en donde se aprovechan características biológicas como la permeabilidad de los vasos sanguíneos en tumores. También existe el **direccionamiento activo**, en el cual se implementan ligandos que se unen a receptores celulares específicos como anticuerpos o péptidos.²⁹

2.5 Dendrímeros

Los dendrímeros son un tipo de polímero con estructura hiperramificada que, a diferencia de sus análogos lineales, poseen una arquitectura simétrica que les permite adoptar una forma y tamaño bien definido, los cuales son aprovechados por la nanomedicina como acarreadores de fármacos, es decir, estructuras que transportan a uno o más principios activos. Los dendrímeros están compuestos por un núcleo y capas de unidades monoméricas denominadas generaciones (**Figura 10**), además poseen ramificaciones denominadas dendrones, es decir, ramas de unidades repetitivas que se añaden a la periferia del dendrímero durante cada generación de crecimiento, de esta forma existen dendrones de primera, segunda o tercera Generación (G) respectivamente, estos dendrones son los responsables directos de la estructura y tamaño del dendrímero, por ende los grupos funcionales de las unidades monoméricas de la periferia del dendrímero permiten modular su comportamiento macroscópico y propiedades químicas, como solubilidad, reactividad y la capacidad de formar interacciones supramoleculares.^{30, 31}

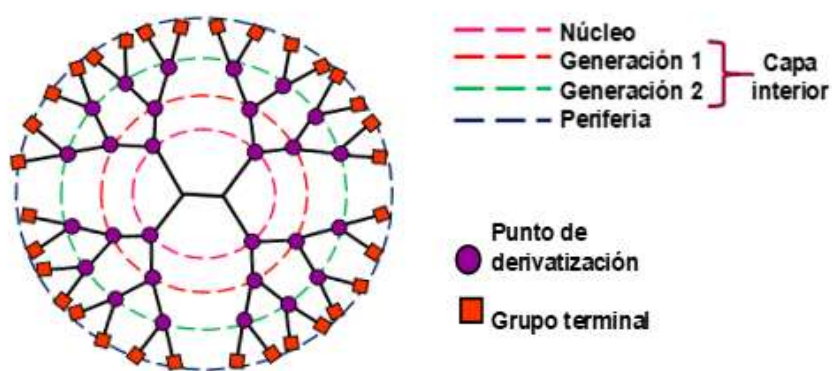


Figura 10. Estructura general de un dendrímero.

La metodología para sintetizar este tipo de estructuras se divide en dos estrategias: síntesis convergente; la cual se lleva a cabo a través de reacciones de activación selectiva de los grupos funcionales de las unidades monoméricas para obtener ramificaciones de las generaciones deseadas, para posteriormente, hacer converger las ramificaciones hacia el núcleo, en otras palabras, los dendrones se sintetizan por separado y luego se acoplan al núcleo para obtener al dendrímero (**Figura 11**).³²

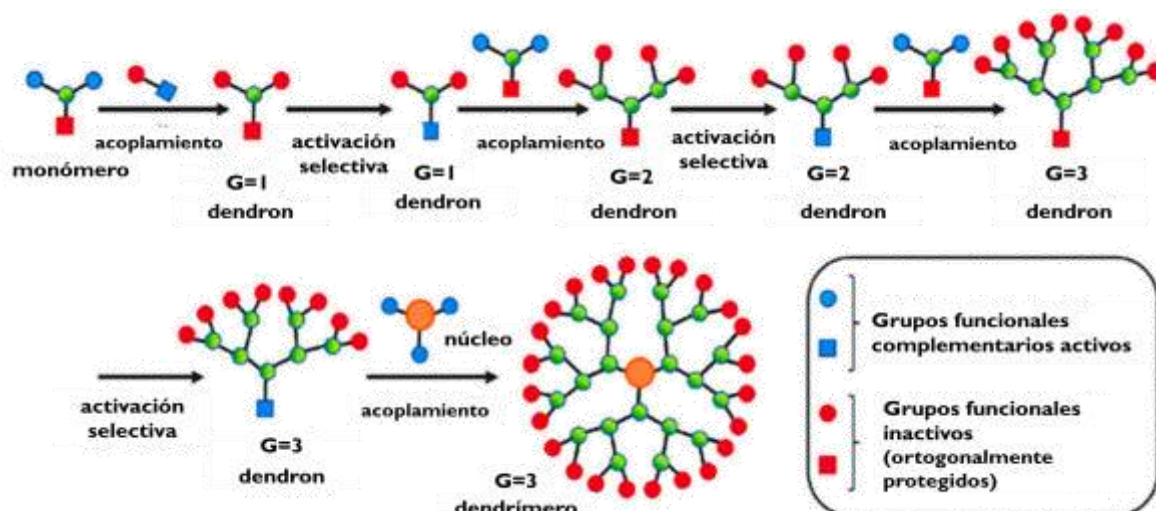


Figura 11. Síntesis convergente de un dendrímero.³³

Por otra parte, en la síntesis divergente, el acoplamiento de los grupos funcionales de las unidades monoméricas no ocurre de manera selectiva, sino que el acoplamiento ocurre de manera homogénea en los grupos funcionales de las unidades monoméricas que se encuentren en la periferia, de esta manera se obtienen las mencionadas ramificaciones que de igual forma se llamarán de primera, segunda o tercera Generación (G) respectivamente, lo que permite hacer crecer al dendrímero de forma homogénea (Figura 12).³⁴

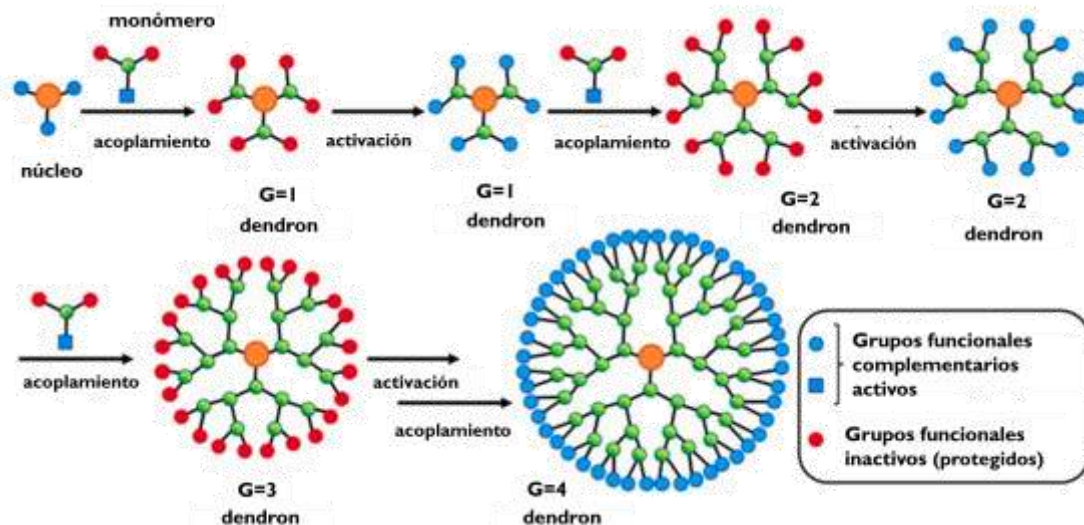


Figura 12. Síntesis divergente de un dendrímero.³³

2.6 Química de dendrímeros

Las contribuciones hacia la química de dendrímeros ha sido una pieza fundamental en la investigación y desarrollo de nanomateriales funcionales, en dichas aportaciones destacan principalmente; la invención de los dendrímeros de tipo Poliamidoamina (PAMAM) reportados por Tomalia *et al.* en el año de 1979, los cuales fueron obtenidos mediante una estrategia de síntesis divergente, mientras que en 1993 Meijer *et al.* introducía los dendrímeros de tipo Polipropilenimina (PPI), los cuales mejoraron la estabilidad y control mediante una síntesis divergente, permitiendo la exploración de diferentes núcleos y funcionalizaciones de las unidades monoméricas de la periferia, finalmente el desarrollo de dendrímeros poli ésterhidroxilamina (PEHAM) y poli éster acrilato/amida (PEA), desarrollados nuevamente por Tomalia *et al.* Dichas variantes permitieron ampliar sus aplicaciones en medicina y ciencia de materiales. Por otra parte, en 1989 Frechet *et al.* introdujeron la estrategia de síntesis convergente para el ensamble de dendrímeros mediante ramificaciones prefabricadas, lo que permitió mejorar el control sobre el tamaño y polidispersidad, optimizando su aplicabilidad. En este sentido, el avance en síntesis de dendrímeros permitió explorar otras estrategias para su obtención, como la síntesis de autoensamblaje introducida por Zimmerman *et al.* que en 1996, dicha metodología planteaba la formación de estructuras supramoleculares mediante interacciones no covalentes, facilitando el diseño de materiales funcionales, o la propuesta de Majoral *et al.* en 2003 con la química lego, en donde se enfatizaba el ensamblaje modular de macromoléculas para ofrecer versatilidad y precisión en la construcción de materiales y más recientemente en 2004 la química *click* desarrollada por Sharpless *et al.* La cual se ha convertido en una herramienta esencial para la funcionalización de dendrímeros y otras estructuras macromoleculares, permitiendo reacciones altamente eficientes y selectivas (**Figura 13**).^{35, 36}

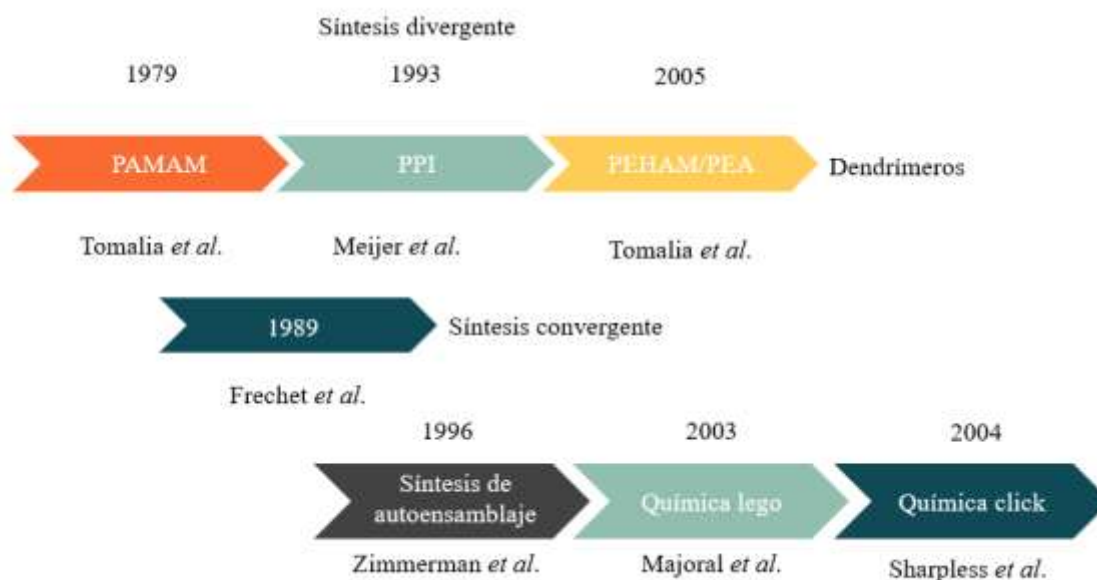


Figura 13. Línea del tiempo, contribuciones a la estrategia de síntesis de dendrímeros.

2.7 Dendrímeros de tipo PAMAM

En este contexto, la evolución en las estrategias de síntesis ha hecho que los dendrímeros más estudiados sean los dendrímeros PAMAM (**Figura 14**) para aplicaciones en nanomedicina y química supramolecular debido a sus propiedades únicas, como su versatilidad para funcionalizar las unidades monoméricas de la superficie, capacidad de carga y biocompatibilidad. Este tipo de nanoestructuras resultan atractivas para la industria farmacéutica como acarreadores de fármacos, dichos dendrímeros de tipo PAMAM han sido aprobados como acarreadores de fármacos, como es el caso del ibuprofeno. Por ello, el interés en este dendrímero se debe principalmente a su versatilidad y al tamaño nanométrico que le permite interactuar con numerosos componentes celulares. Si bien los dendrímeros de tipo PAMAM muestran un gran potencial en la nanomedicina, su toxicidad demuestra una limitante, ya que depende de factores como: el número de grupos amino terminales, ya a pH fisiológico estos grupos amino están protonados, provocando hemólisis en altas concentraciones, lo que hace que un dendrímero PAMAM no sea biocompatible, además que la vía de administración parental promueve una rápida eliminación del sistema circulatorio.^{37, 38, 39}

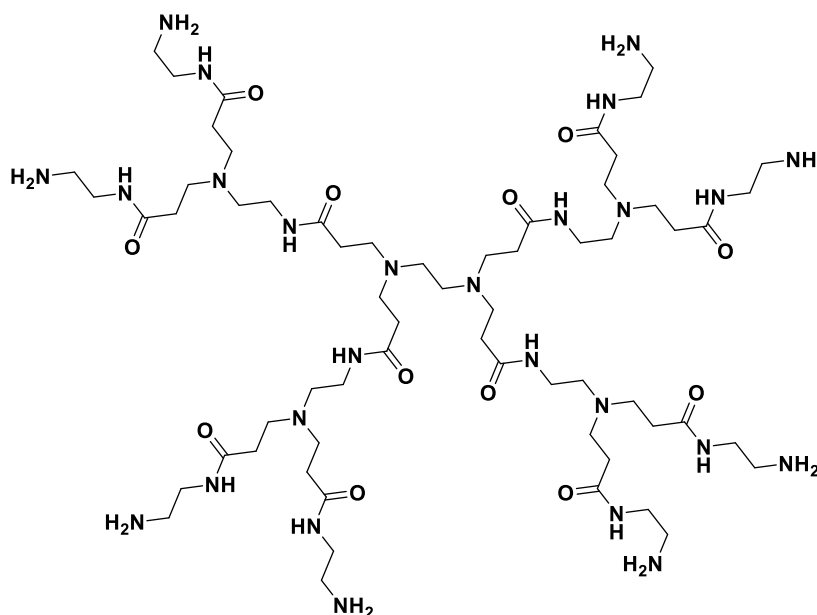


Figura 14. Estructura general de un dendrímero de tipo PAMAM G1.

2.8 Carga de fármacos en dendrímeros

En la literatura, existen múltiples estrategias para la carga de principios activos en dendrímeros, en este sentido, la capacidad de carga se refiere al número de moléculas que el dendrímero puede sostener en su estructura vía interacciones covalentes y no covalentes. La estrategia **A** representa a las unidades monoméricas de la periferia del dendrímero unidas a través de un enlace covalente con los principios activos, ya que este tipo de formulación de carga permite una liberación controlada mediante la ruptura de los enlaces covalentes en condiciones fisiológicas específicas. Por otra parte, la metodología **B** muestra una interacción covalente mediante un enlace escindible, es decir, que puede ser fácilmente removido a través del medio en que se encuentre. En cuanto a la estrategia de carga no covalente, encontramos a la interacción **C**, que representa la encapsulación de los principios activos en las cavidades del dendrímero, dicha formulación se basa en la capacidad del dendrímero para formar cavidades hidrofílicas o hidrofóbicas, que dependen de la arquitectura del dendrímero y la naturaleza de los fármacos. Caso opuesto a la estrategia **D**, en donde la distribución de los principios activos se encuentra en la periferia del dendrímero a través de interacciones supramoleculares. Mientras que las metodologías **E** y **F** representan cúmulos o conjuntos dendriméricos en los que los principios activos se encuentran dispersos tanto en la superficie como en las cavidades de los dendrímeros mediante interacciones mixtas (**Figura 15**).⁴⁰

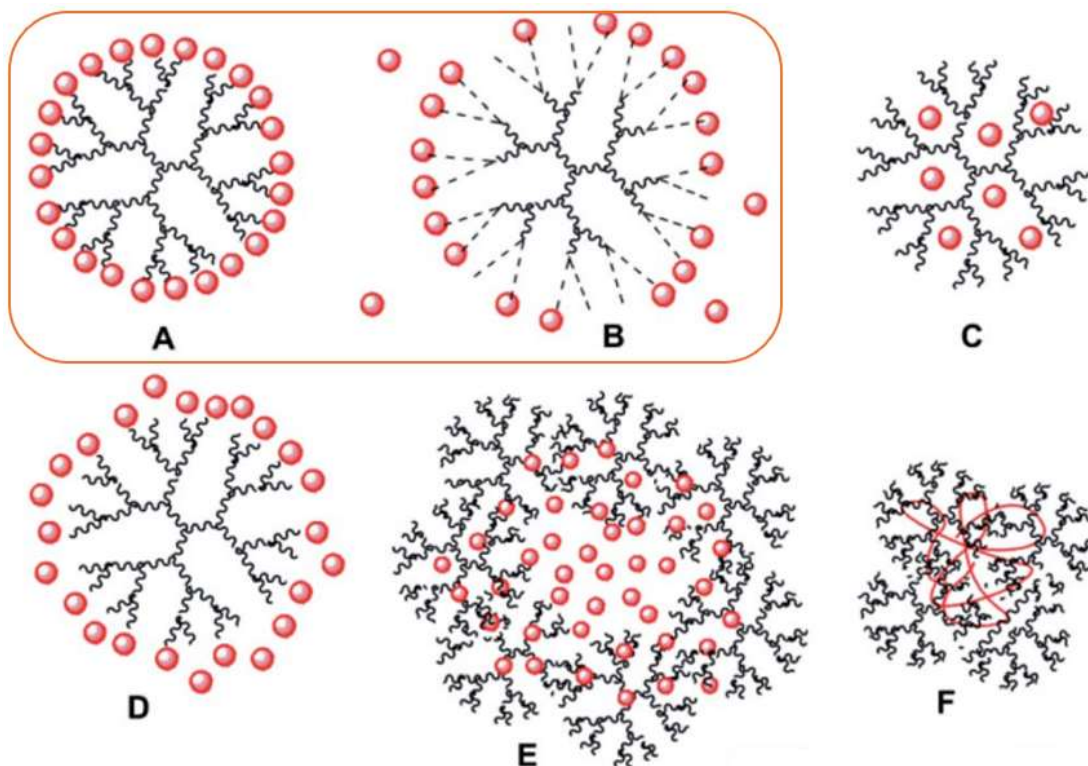


Figura 15. Estrategias generales para la carga de fármacos en dendrímeros.⁴⁰

2.9 β -Ciclodextrina

La β -Ciclodextrina (β -CD) es un oligosacárido cíclico constituido por 7 unidades de D-glucosa, que proviene de la degradación enzimática del almidón y se encuentra unida por enlaces glicosídicos α -1, 4 que forman una estructura toroidal, también reconocida como una forma de cono truncado, dicha adaptación conformacional se debe a la rigidez de los anillos de D-glucosa y a la orientación de los enlaces glicosídicos. Esta particular forma toroidal le permite adaptar una superficie externa hidrofílica y una cavidad hidrofóbica. Dentro de sus características estructurales destacan: su diámetro externo ~ 1.5 nm y el diámetro de la cavidad ~ 0.60 a 0.65 nm, además de una altura ~ 0.79 nm. Posee una moderada solubilidad en agua, ~ 18.6 g/L a temperatura ambiente, dicha solubilidad se debe a su superficie hidrofílica que forma una extensa red de enlaces de hidrógeno entre los hidroxilos. Además, su particular forma le permite tener 2 caras por las cuales pueda encapsular pequeñas moléculas no polares o ligeramente polares, la cara primaria alberga a 7 hidroxilos primarios mientras que en la cara secundaria soporta a 14 hidroxilos secundarios (**Figura 16**).^{41, 42}

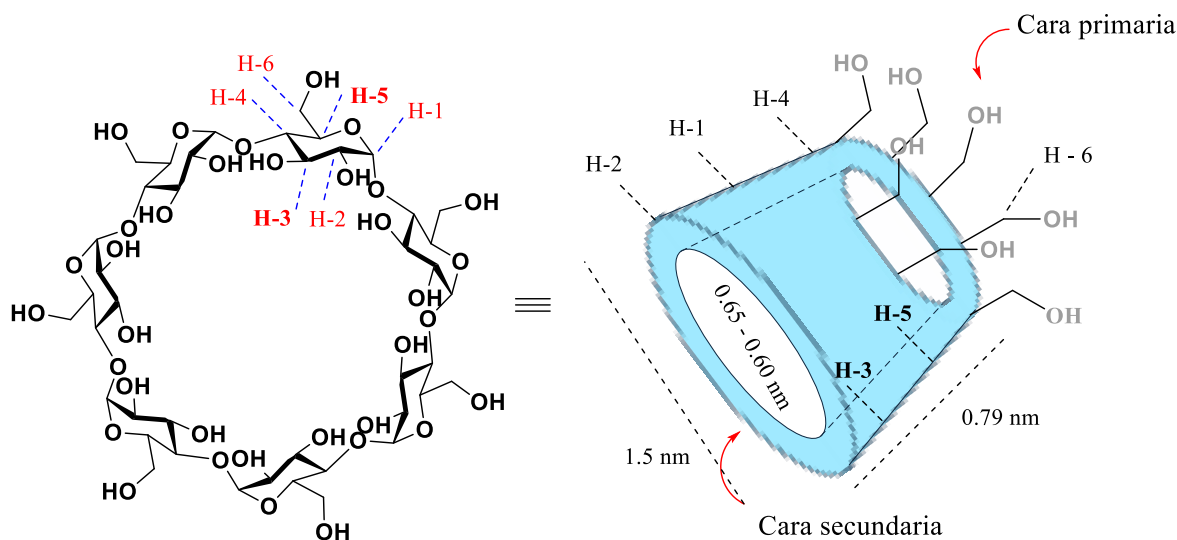


Figura 16. Estructura de la β -CD.

Al ser una de las principales ventajas su moderada solubilidad en agua de la β -CD y la biocompatibilidad que ofrece, permite mejorar la biodisponibilidad de fármacos hidrofóbicos al utilizarse como excipiente. Por otra parte, la versatilidad de reacciones químicas con las que se pueden funcionalizar de forma regioselectiva a los hidroxilos, ya sea de la cara secundaria o primaria mediante condiciones controladas resulta bastante atractivo para realizar modificaciones químicas que permiten dar lugar derivados con propiedades mejoradas para aplicaciones en el ámbito farmacéutico, cosmético, alimenticio y ambiental.^{42, 43}

2.10 Complejos de inclusión β-CD/huésped

La β-CD puede formar complejos de inclusión (CI) supramoleculares con una gran variedad de compuestos orgánicos, debido a su cavidad hidrofóbica. La formación de dichos CIs ocurre cuando una molécula huésped se inserta parcial o totalmente en la cavidad de la β-CD. Dicha interacción está impulsada principalmente por la expulsión de moléculas de agua alojadas dentro de la cavidad y estabilizadas a través de interacciones no covalentes, predominantemente hidrofóbicas, aunque también pueden intervenir interacciones de Van Der Waals e incluso puentes de hidrógeno (**Figura 17**).^{43, 44, 45}

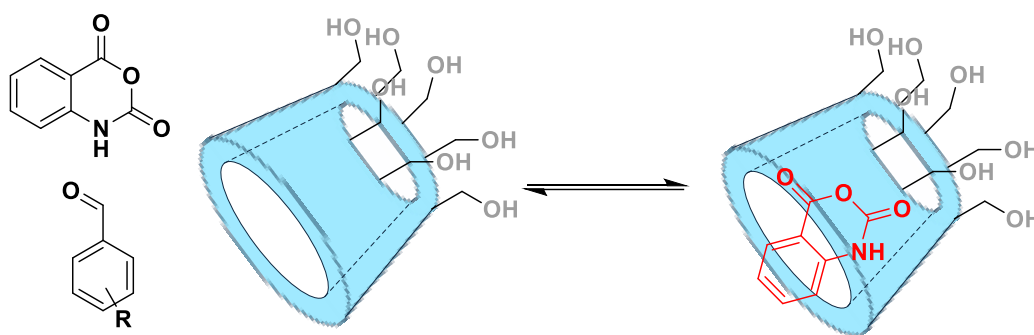


Figura 17. Formación de CIs con huéspedes hidrofóbicos en la cavidad β-CD.

En este sentido, las moléculas hidrofóbicas y estructuralmente compatibles en forma y tamaño pueden introducirse en la cavidad de la β-CD, sin embargo, no poseen una alta afinidad por mantener ocupada dicha cavidad y sostener el CI. En este contexto, la constante de afinidad K_a es un parámetro termodinámico que cuantifica la estabilidad del complejo y se expresa como:

$$K_a = \frac{[CD \cdot H]}{[CD][H]}$$

En donde [CD] representa la concentración de ciclodextrina libre, [H] la concentración del huésped libre, y [CD·H] la concentración del complejo formado, de tal forma que la introducción de grupos funcionales como alcoholes, ácidos carboxílicos o aminos no favorece la formación de CIs, ya que este tipo de grupos funcionales son polares, como resultado las interacciones huésped-CD son débiles, principalmente de tipo Van der Waals, y el desplazamiento de agua desde la cavidad es mínimo. En consecuencia, la constante de afinidad para estos sistemas típicamente se sitúa en un rango entre 10 y 200 M⁻¹, lo que da lugar a CIs inestables y de escasa reproducibilidad.^{46, 42}

2.11 Afinidad del adamantano por la cavidad de la β -CD

Existen moléculas estructuralmente compatibles en forma y tamaño con la cavidad de la β -CD, como el anillo de adamantano (Ad) el cual presenta una afinidad excepcionalmente alta por la cavidad de la β -CD. El Ad es un hidrocarburo saturado de geometría rígida y tridimensional, la inclusión del Ad en esta molécula resulta en una expulsión eficiente de las moléculas de agua, generando una ganancia entrópica significativa y estabilizando el sistema mediante interacciones hidrofóbicas y de Van der Waals. Como resultado los valores de K_a alcanzan cifras de 10^4 a 10^5 M^{-1} , lo que evidencia la formación de CIs muy estables (**Figura 18**).^{47, 48, 49}

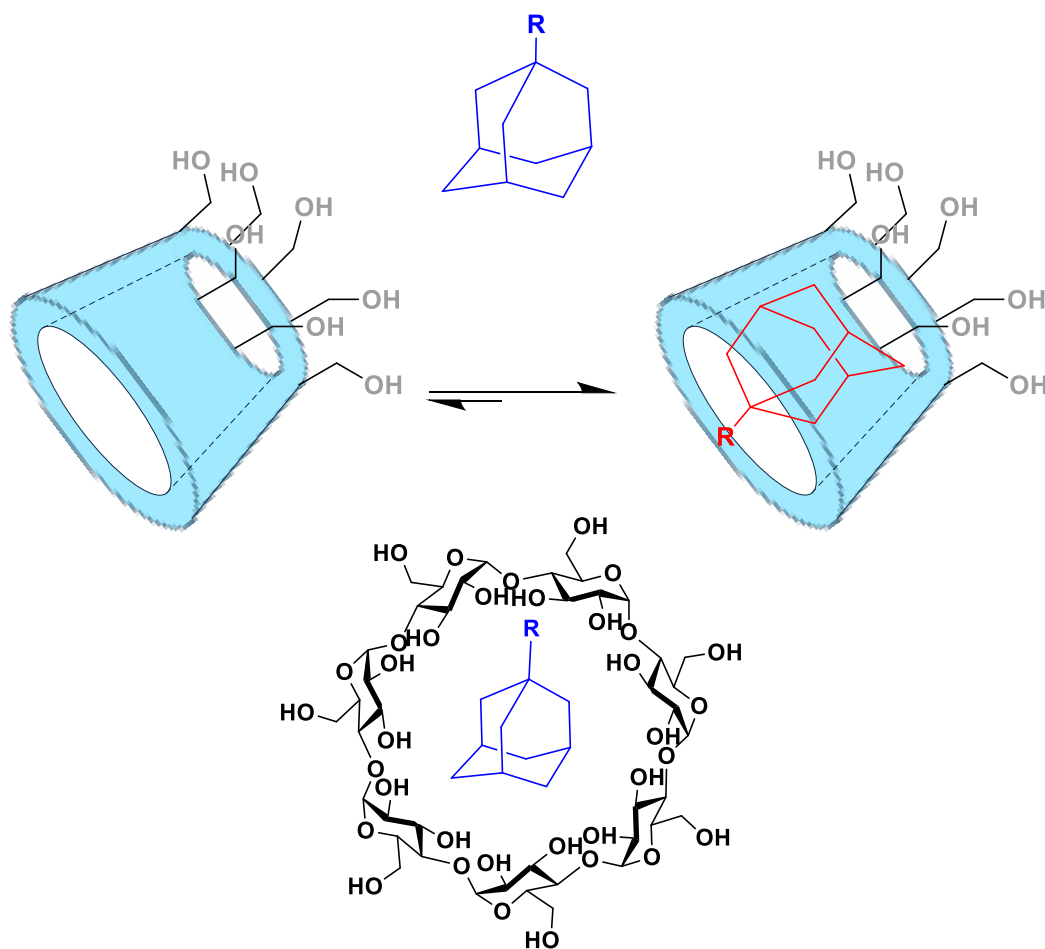


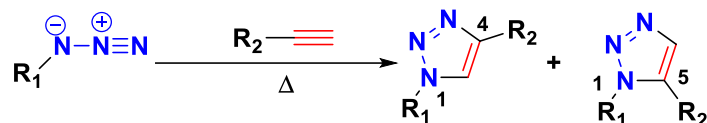
Figura 18. Uso del anillo de Ad como huésped de la β -CD.

La capacidad de la β -CD para formar CIs está fuertemente influenciada por la naturaleza química y estructural de la molécula huésped, por lo que el Ad y derivados generan CIs gracias a su afinidad óptima con la cavidad de la β -CD, lo que permite el desarrollo de múltiples aplicaciones farmacéuticas basadas en la versatilidad de la β -CD como anfitrión molecular de distintas moléculas huésped.^{47, 43}

2.12 Química *click*

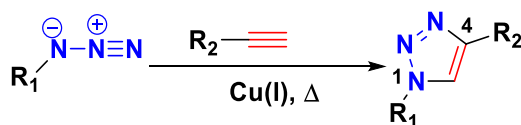
La química *click*, es una filosofía y estrategia en la química sintética acuñada en 2001, idealizada por K. Barry Sharpless y Morten Meldal, a través de la observación de la naturaleza, en la que se ensamblan moléculas complejas a partir de pequeñas unidades modulares, de forma rápida y eficiente, a lo que inspirados por esta observación de la naturaleza propusieron un conjunto de parámetros y criterios para definir reacciones *click*, que se caracterizan por ser rápidas, simples, fáciles, versátiles, específicas y altamente eficientes para generar productos con altos rendimientos químicos, subproductos mínimos y fáciles de eliminar, de manera que estas reacciones se lleven a cabo bajo condiciones fáciles y amigables con el ambiente. En este sentido, el objetivo central de la química *click* es simplificar la síntesis química para hacerla más eficiente, selectiva y modular, permitiendo unir rápidamente unidades moleculares para construir moléculas complejas de manera más sencilla, pues la química *click* busca transformar las rutas de síntesis tradicionales que resultan en su mayoría poco eficientes y laboriosas, para resultar en rutas de síntesis más directas, con altos rendimientos, en menos etapas y haciendo menor uso de recursos.

La reacción más representativa de la química *click* es la cicloadición 1,3 de una azida a un alquino catalizada por Cu(I), no obstante, esta reacción fue originalmente reportada por Rolf Huisgen en 1967, sin embargo, esta reacción carecía de ser catalizada por Cu(I), lo que producía triazoles sustituidos en las posiciones 1,4 y 1,5 con bajos rendimientos químicos (**Esquema 3**).^{50, 51}



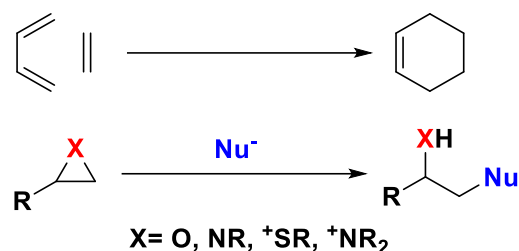
Esquema 3. Cicloadición 1,3 dipolar entre azidas y alquinos de Rolf Huisgen.

En este sentido, la introducción de Cu(I), permitió volver altamente eficientes, selectivas y prácticas a este tipo de reacciones, ya que se obtenía como único producto al triazol 1,4 disustituido, por lo cual, esta estrategia de síntesis fue reconocida con el Premio Nobel de Química en el año 2022, ya que ha tenido un impacto sustancialmente significativo en la síntesis de fármacos, materiales poliméricos y diversas conjugaciones (**Esquema 4**).^{51, 52}



Esquema 4. Cicloadición 1,3 dipolar catalizada por Cu(I) propuesta por Barry Sharpless y Morten Meldal.

Otros ejemplos de química *click* incluyen las reacciones de cicloadición de Diels-Alder entre un dieno conjugado y un dienófilo para formar un derivado sustituido del ciclo hexeno. De igual forma, las reacciones de apertura de anillos heterocíclicos pequeños como epóxidos, aziridinas o episulfuros mediante la inducción de nucleófilos se consideran reacciones *click* por ser extremadamente eficientes (**Esquema 5**).⁵¹



Esquema 5. Ejemplos de reacciones de química *click*.

En resumen, las reacciones de química *click*, ocurren de manera eficiente y con altos rendimientos químicos, se llevan a cabo bajo condiciones suaves, empleando materias primas accesibles y disolventes amigables con el ambiente, como el agua, permitiendo obtener selectividad y robustez, además de generar pocos o ningún subproducto tóxico, facilitando la purificación de los productos favoreciendo una química verde. No obstante, también presentan algunas desventajas, como la necesidad de Cu(I) como catalizador metálico para reacciones de cicloadición 1,3 dipolar, que debe ser eliminado totalmente si se busca que el producto tenga aplicaciones biológicas. Además del limitado catálogo de reacciones *click*, pues existe un número limitado de reacciones que cumplan estrictamente todos los criterios de química *click* y muchas moléculas utilizadas como precursores presentan problemas de solubilidad acuosa o estabilidad en agua, dificultando su aplicación. No obstante, la química *click*, representa una evolución en la planificación y ejecución en la química sintética moderna, ofreciendo alternativas eficientes, sencillas y sostenibles.^{51, 52}

2.13 Química *click* aplicada en dendrímeros de tipo PAMAM decorados con β -CD

Actualmente la introducción de la química *click* en dendrímeros representa un punto de convergencia innovadora entre dos pilares versátiles de la química supramolecular, debido a que las reacciones altamente eficientes y selectivas de la química *click*, que proveen una estructura tridimensional bien definida y funcionalizable en los dendrímeros. De dicha convergencia se han impulsado avances significativos en el área de la nanotecnología, específicamente en la nanomedicina, debido a la facilidad para la síntesis de arquitecturas dendríticas complejas y modularmente construidas mediante síntesis convergente o divergente. Recordando que los dendrímeros son macromoléculas hiperramificadas con una arquitectura esférica altamente controlada y dependiendo de su generación posee múltiples

grupos funcionales en su periferia que se adaptan como módulos versátiles, en este sentido, la incorporación de la cicloadición 1,3 dipolar catalizada por Cu(I) en la estrategia de síntesis de dendrímeros de tipo PAMAM ha permitido obtener mejores rendimientos químicos, por otra parte, la introducción de unidades periféricas de β -CD en la estructura dendrímica, funcionalizando la cara primaria de la β -CD, ha abierto la puerta a dendrímeros adaptados para su uso como nanoacarreadores, debido a que la β -CD permite encapsular pequeñas moléculas hidrofóbicas vía la formación de CI a través de interacciones supramoleculares y controlar su liberación mediante la formación de CIs en las cavidades lipofílicas de la β -CD, además de aportar biocompatibilidad al nanoacarreador, de esta manera se tiene un control en la capacidad de carga de los dendrímeros a diferencia de los dendrímeros con grupos amino terminales en donde las interacciones supramoleculares no están controladas para su capacidad de carga de fármaco.

En este sentido, la incorporación de unidades de β -CD en la periferia del dendrímero incrementan la solubilidad acuosa y biocompatibilidad del dendrímero, de esta manera, se reduce la toxicidad asociada a los grupos libres amino terminales de arquitecturas dendríticas de tipo PAMAM, lo que permite garantizar la seguridad del nanoacarreador. No obstante, la aplicación más explorada para los nanoacarreadores ha sido como acarreadores de fármacos en el tratamiento contra distintos tipos de cáncer. Particularmente, el quimioterapéutico de doxorrubicina modificado como un profármaco introduciendo un anillo de Ad en su estructura química con el objetivo de ensamblarlo en las cavidades de la β -CD, de esta manera se incrementa la solubilidad acuosa mediante inducción, además de aportar una notable capacidad de encapsulación para formar los CI. Además, para la construcción de este profármaco se utilizó un enlace escindible a pH ácido de tipo hidrazona, permitiendo que la liberación de doxorrubicina ocurra de manera selectiva en ambientes relativamente ácidos como el microambiente tumoral, mejorando la especificidad y simultáneamente reducir los efectos adversos y sistemáticos asociados a una dosificación común de la doxorrubicina libre. Por consecuencia, el ensamblaje supramolecular entre el dendrímero de tipo PAMAM decorado con unidades periféricas de β -CD y el profármacos de doxorrubicina con Ad anclados mediante un enlace escindible ofrecen perfiles de liberación controlada en ambientes tumorales y también de liberación prolongada (superior a 72 horas), además de presentar actividad citotóxica comparable a la doxorrubicina libre, de esta manera, se asegura que la acción terapéutica se ha mantenido y que se intensifica en el sitio tumoral deseado. En este sentido, los estudios *in vitro* muestran una eficacia terapéutica mejorada, debido a que el nanoacarreador es inocuo *per se*, de manera que libera doxorrubicina en ambientes cancerosos, disminuyendo la cardiotoxicidad sistemática, por lo que modificar dendrímeros de tipo PAMAM con unidades periféricas de β -CD y ensamblar profármacos que incorporen Ad y un enlace escindible en su estructura constituyen una plataforma avanzada y versátil para liberación controlada de fármacos, combinando alta eficiencia, menores efectos adversos y secundarios, además de ofrecer perfiles de liberación prolongada (**Figura 19**).^{53,}

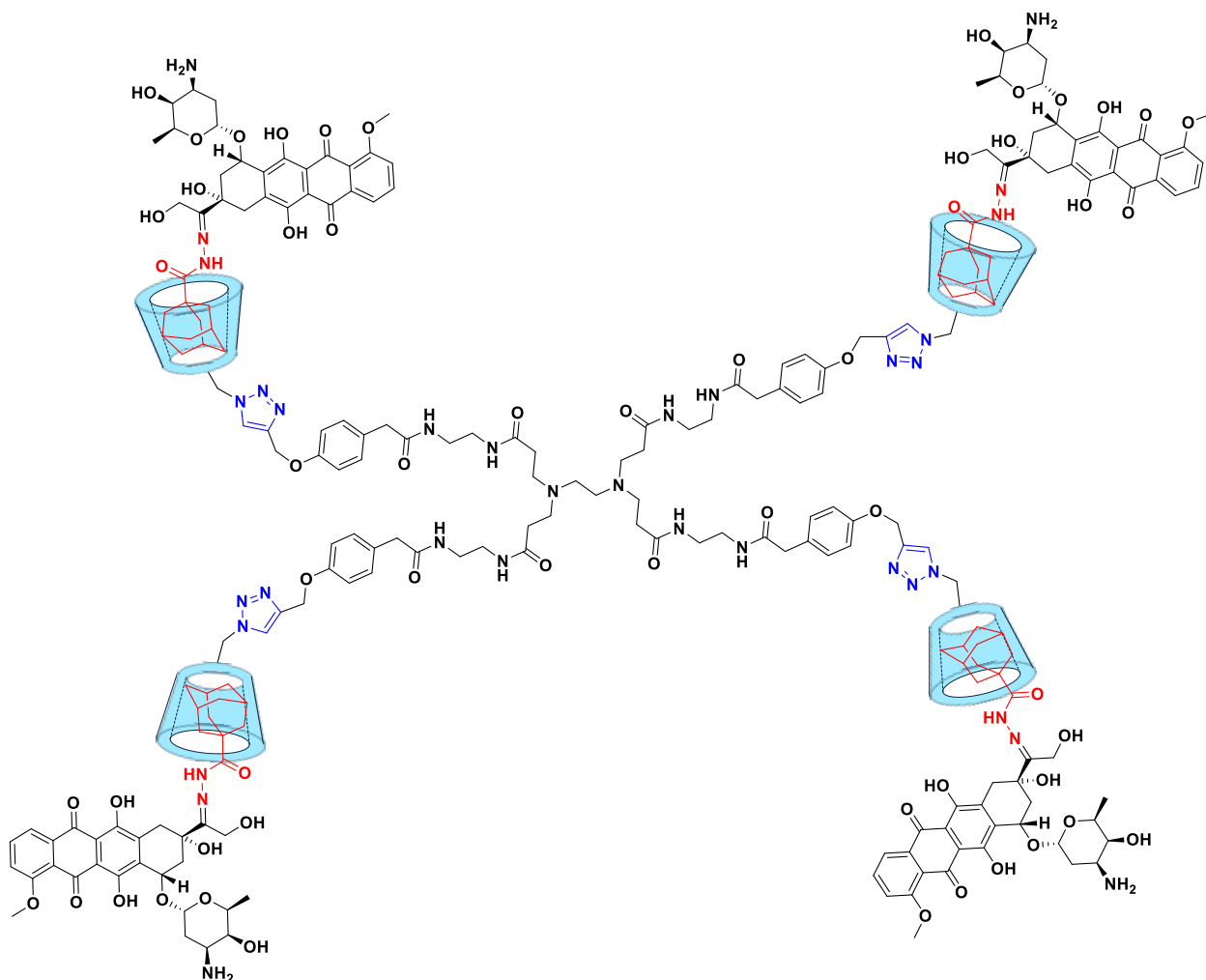


Figura 19. Estructura del dendrímero PAMAM decorado con 4 unidades periféricas de β -CD cargado con un profármaco de doxorubicina.⁵⁴

2.14 Química click en arquitecturas dendríticas basadas en β -CD

Ensamblar profármacos que incorporen un anillo de Ad no es la única alternativa, como se mencionó en la introducción, la cavidad de la β -CD puede albergar a pequeñas moléculas lipofílicas. A continuación, el trabajo ilustrado en la **Figura 20** presenta un nanoacarreador de clase glicodendrímico basado en β -CD que se obtuvo con la reacción *click* de cicloadición 1,3 dipolar catalizada por Cu(I), funcionalizando la cara primaria de la β -CD, de manera que la eficiencia de encapsulación de Metotrexato (un fármaco utilizado en el tratamiento de leucemia) en el nanoacarreador resultó ser de 52% de eficiencia de encapsulación del complejo MTX/ β -CD, de manera que la capacidad de encapsulación del nanoacarreador se debe tanto a las cavidades de las unidades de β -CD así como a la red dendrítica.⁵⁵

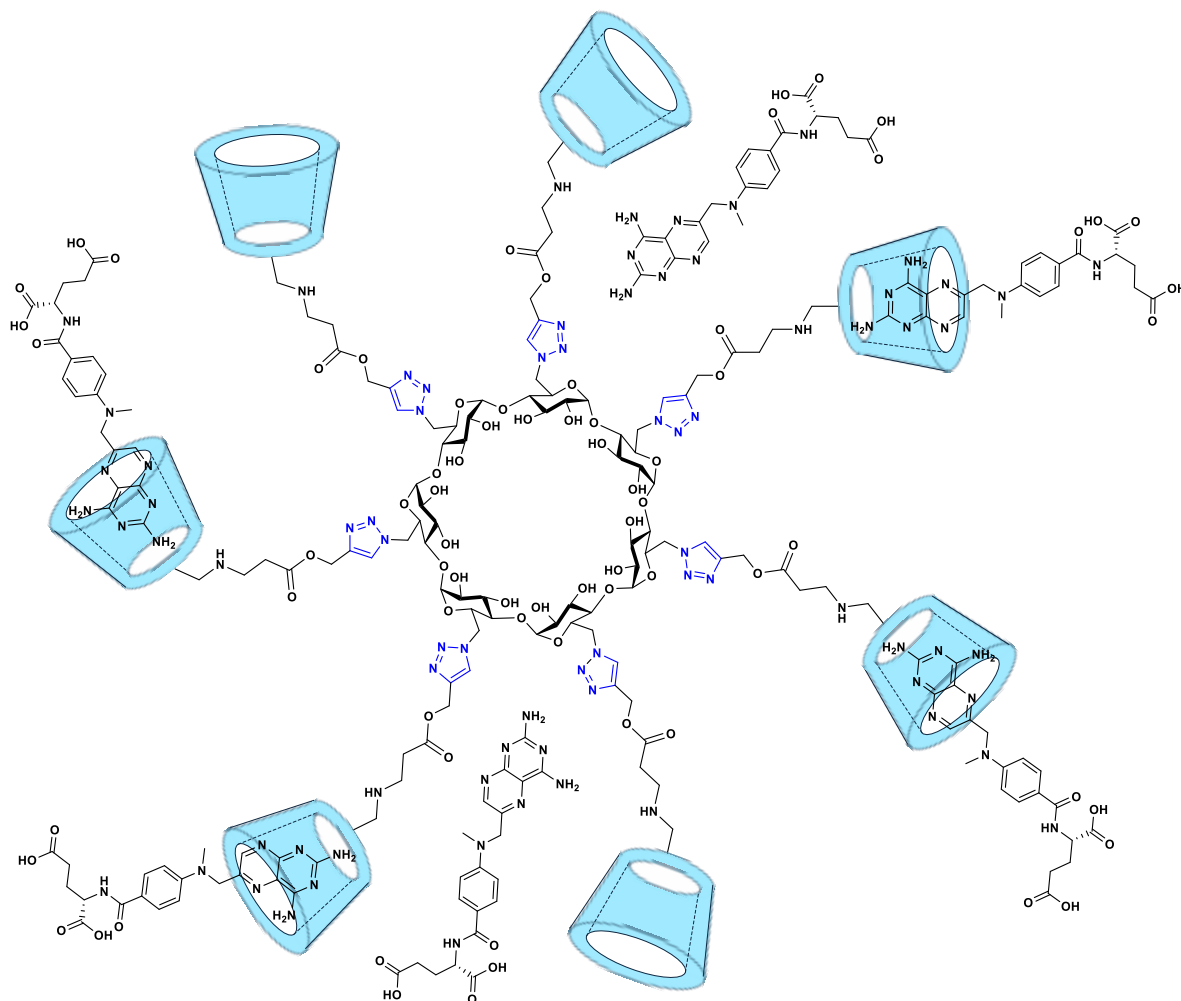


Figura 20. Glicodendrímtero basado en β -CD ensamblado con Metotrexato.⁵⁵

Adicionalmente los estudios *in vitro* realizados sugieren un perfil de liberación sostenido y controlado hasta 72 h, en donde la liberación es sensible al pH ácido. Sin embargo, las principales desventajas que presenta este diseño son la eficacia global en esta ruta de síntesis, aunque son rendimientos razonables (alrededor de 53 % de rendimiento en la reacción *click*) pueden limitar el escalamiento en mayores cantidades. Mientras que, por otra parte, los análisis DLS y SEM revelan tamaños promedio de 57 nm para el nanoacarreador y 78 nm para el nanoacarreador cargado con MTX, dimensiones que sugieren que pueden formarse agregados que pueden afectar su estabilidad en sangre y su internalización celular.

En contraste con estos diseños, la implementación de profármacos que incorporen un anillo de Ad en su estructura aprovechan la afinidad del Adamantano por la cavidad de la β -CD, lo cual permite que se ensamblen espontáneamente por interacciones supramoleculares, así, el ensamblaje de fármacos ocurre de igual forma por interacciones no covalentes, sin embargo, la ausencia del anillo de Ad no garantiza una formación eficiente del CI. Pues el ensamblaje Ad/ β -CD no es reversible, porque el equilibrio de inclusión se basa en la afinidad del huésped, ideal para sistemas de liberación sensibles a estímulos, mientras que el

glicodendrímtero aporta encapsulación por confinamiento físico y presencia de múltiples sitios de inclusión en sus unidades de β -CD, así como en su red dendrítica, lo que aporta una mayor tasa de reversibilidad.

En este sentido, la implementación del anillo de Ad en profármacos es sumamente útil para la liberación controlada de fármacos mediante estímulos específicos garantizando una alta afinidad de interacciones supramoleculares en el nanoacarreador y simultáneamente obtener una liberación prolongada al tener control en la capacidad de carga, mientras que arquitecturas dendríticas que encapsulan únicamente a los fármacos por confinamiento físico o mediante redes poliméricas, lo que dificulta una liberación adecuada dadas las interacciones supramoleculares.⁵⁵

2.15 ¿Cómo ayudan los sistemas de liberación controlada de fármacos a controlar y combatir la resistencia bacteriana?

Los sistemas de liberación controlada de fármacos ofrecen varias ventajas en el combate de la resistencia bacteriana, mejorando la efectividad de los tratamientos antibióticos y reduciendo el riesgo de que las bacterias desarrollen resistencia. Estos sistemas optimizan la entrega y el tiempo de acción de los antibióticos, lo que es clave para frenar la evolución de bacterias resistentes.⁵⁶

1. Optimización de las concentraciones de fármaco: los sistemas de liberación controlada mantienen una concentración constante y adecuada del antibiótico en el sitio de infección durante un periodo prolongado. Lo que evita las fluctuaciones típicas de la administración convencional, donde las concentraciones pueden ser demasiado bajas (favoreciendo la resistencia) o demasiado altas (causando efectos secundarios).
2. Liberación dirigida al sitio de infección: estos sistemas pueden ser diseñados para liberar el antibiótico de manera selectiva en el sitio de la infección bacteriana, esta liberación dirigida reduce la exposición del microbiota normal, minimizando la probabilidad de que desarrollen resistencia, también ayuda a reducir los efectos secundarios propios del tratamiento.
3. Prolongación de la eficacia del fármaco: mediante la liberación controlada, el antibiótico, se libera a lo largo del tiempo, lo que permite que actúe de forma continua sobre las bacterias, evitando intervalos en los que las bacterias podrían recuperarse o adaptarse. Esto reduce las posibilidades de que se desarrollen cepas resistentes durante el tratamiento.
4. Reducción de la dosis total del antibiótico: la administración de antibióticos mediante sistemas de liberación controlada generalmente requiere dosis más bajas en comparación con la administración convencional, ya que el fármaco se administra de manera más

eficiente, esto contribuye a reducir el riesgo de que el microorganismo active mecanismo de resistencia, dado que se evita el uso excesivo o inadecuado del antibiótico.

5. Incorporación de estrategias de liberación de múltiples fármacos: algunos sistemas de liberación simultánea de fármacos, lo que permite liberar múltiples antibióticos o combinaciones de antibióticos con otros compuestos antimicrobianos, estos ayudan a atacar a las bacterias mediante diferentes mecanismos de acción, dificultando que desarrollen resistencia a un tipo de estructura química específica.

CAPÍTULO III. JUSTIFICACIÓN E HIPÓTESIS.

3.1 Justificación

Los antibióticos β -lactámicos se mantienen como la clasificación de fármacos de primera elección para la terapia de infecciones bacterianas; no obstante, su eficacia se ve limitada por un perfil fisicoquímico deficiente, caracterizado por una baja solubilidad y permeabilidad. Estas limitaciones obligan a prescribir dosis elevadas de antibiótico para alcanzar niveles terapéuticos, lo que favorece la aparición de resistencia bacteriana debido a la exposición frecuente del patógeno a concentraciones subóptimas. Ante este escenario, resulta imperativo optimizar el perfil biofarmacéutico de los antibióticos β -lactámicos mediante modificaciones estructurales que permitan el autoensamblaje con la β -CD y con dendrímeros PAMAM funcionalizados con unidades de β -CD con el objetivo de desarrollar nanoacarreadores de fármacos que permitan mejorar la entrega del fármaco y potenciar la respuesta clínica de los antibióticos β -lactámicos.

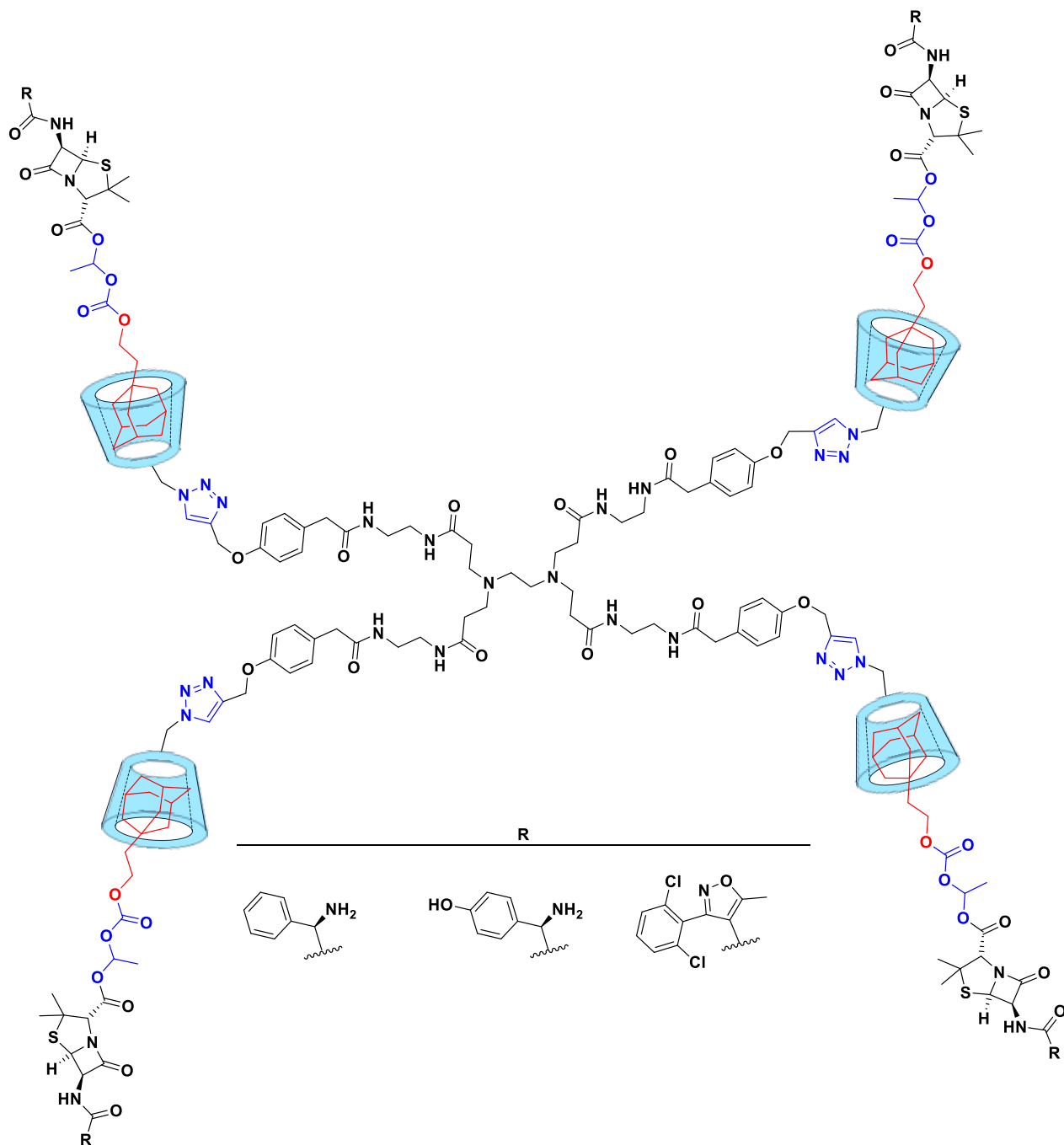
3.2 Hipótesis

El diseño molecular de antibióticos β -lactámicos con un enlazador de tipo alquiloxycarboniloxialquil y un residuo de adamantano permitirá obtener profármacos que se activen por pH ácido, además, este diseño permitirá que estas nuevas estructuras puedan ser integradas en un sistema acarreador de fármacos de tipo dendrimérico a través de autoensamblaje supramolecular, esta estrategia permitirá optimizar el perfil biofarmacéutico de los antibióticos β -lactámicos para obtener sistemas novedosos que mejoren las terapias convencionales para el tratamiento de infecciones bacterianas.

CAPÍTULO IV. OBJETIVOS.

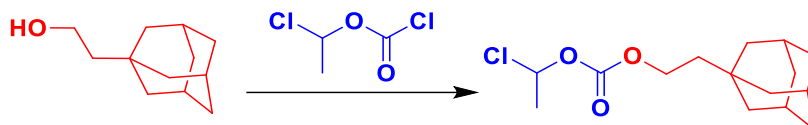
4.1 Objetivo general

- Diseñar y sintetizar 3 profármacos β -lactámicos, que estructuralmente contengan un anillo de Ad unido a través de un enlace de tipo alquilo xiloxialquil escindible por pH y ensamblarlo con un dendrímero PAMAM-tetra- β -CD como potencial nanoacarreador de profármacos β -lactámicos.

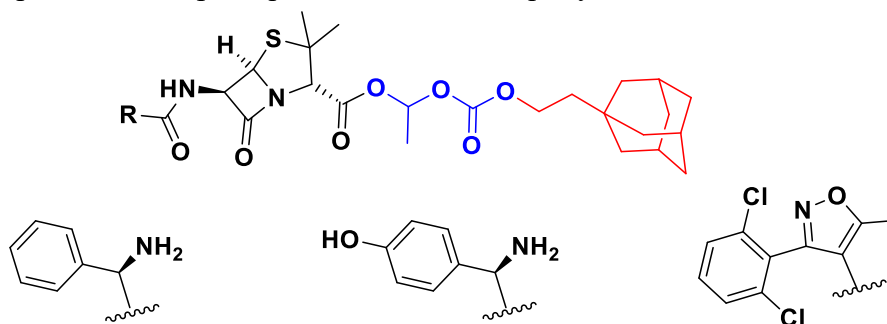


4.2 Objetivos específicos

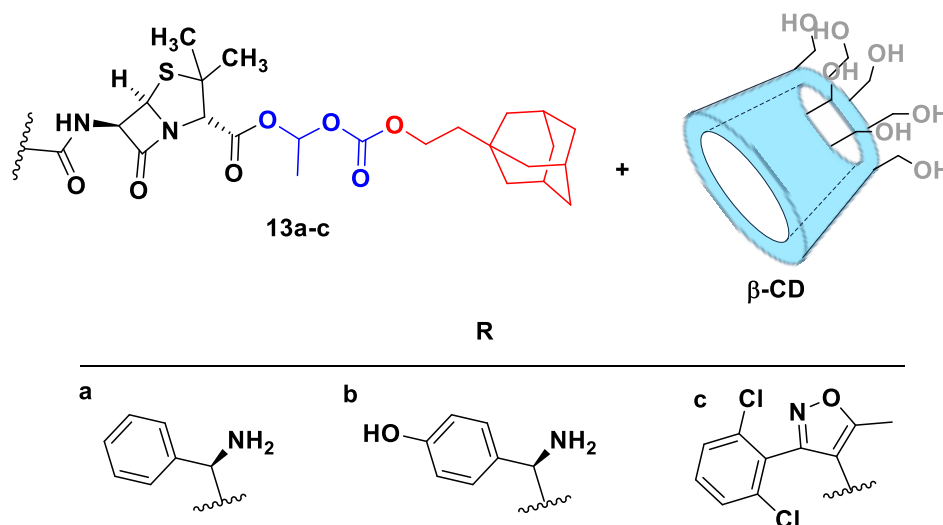
- Sintetizar el carbonato de 1-cloroetil-2-adamantanetil carbonato (linker) y establecer condiciones óptimas de reacción.



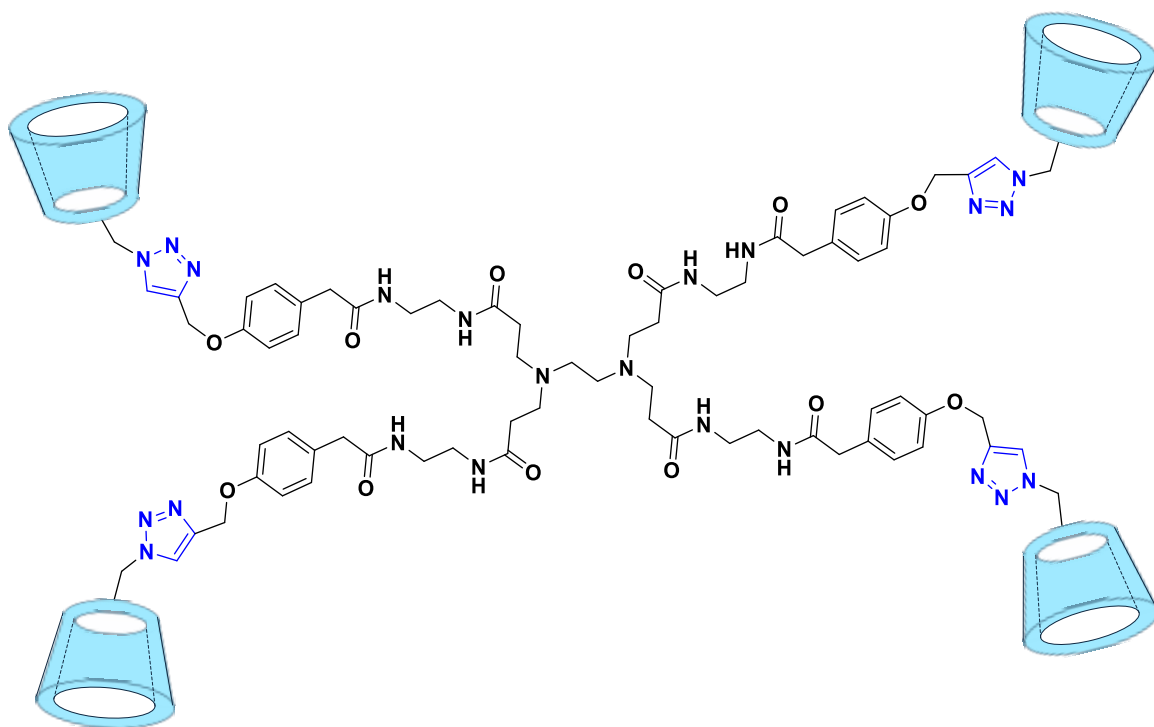
- Diseñar y sintetizar profármacos de amoxicilina, ampicilina y dicloxacilina, con un enlace sensible a pH ácido de tipo alquiloiloxycarboniloxialquil y un residuo de adamantano.



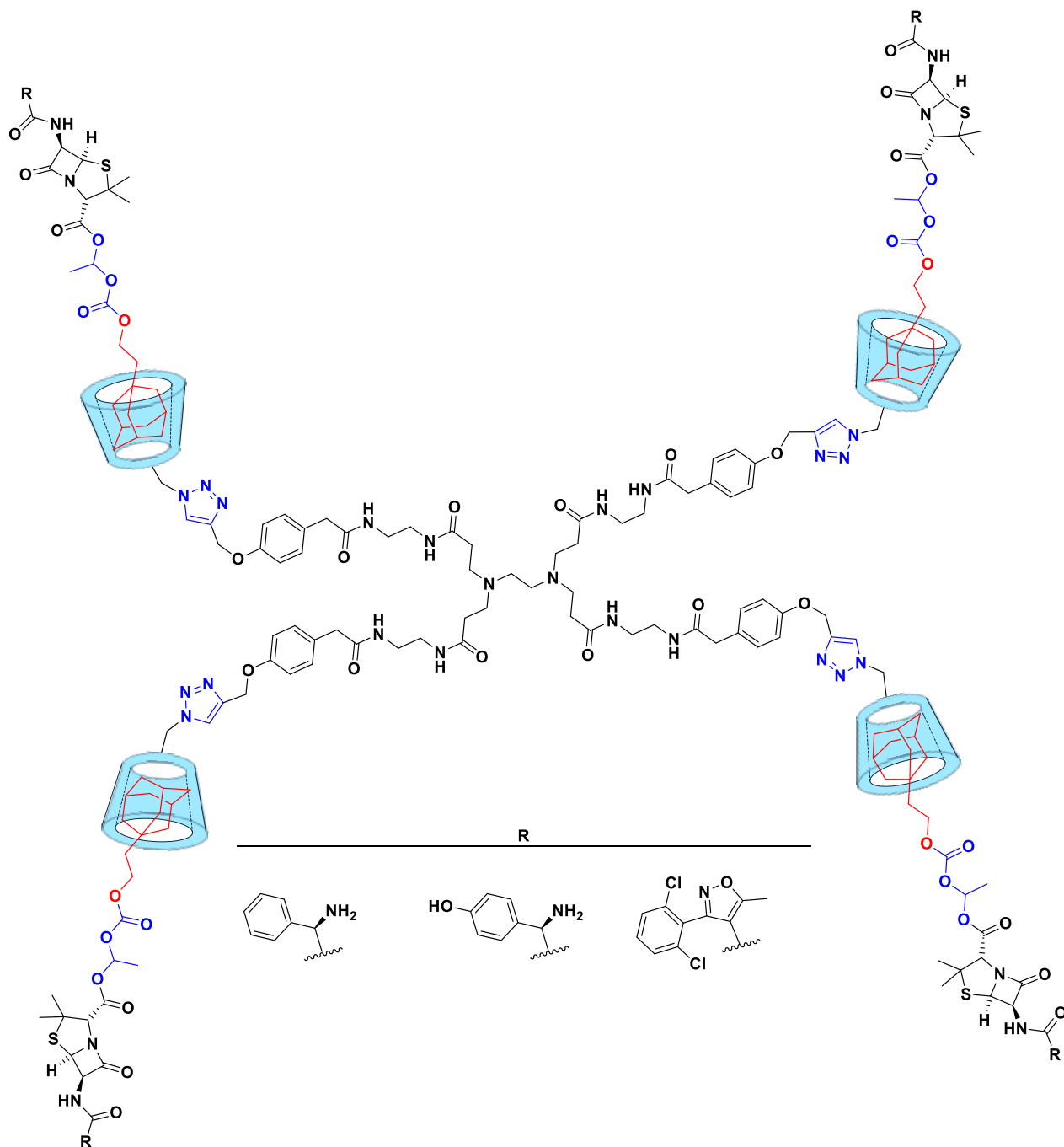
- Realizar curvas de calibración por UV-vis de los antibióticos β -lactámicos **12a-c** (Ampicilina, Amoxicilina y Dicloxacilina), comercialmente disponibles, que permitan la cuantificación de los antibióticos en estudios de cinéticas de hidrólisis de los profármacos diseñados.
- Determinar la cinética de hidrólisis de los profármacos β -lactámicos simulando condiciones ácidas estomacales a pH 1.2 y 37 °C.
- Llevar a cabo la formación de CI en solución de los profármacos **13a-c** con la β -CD como sistemas modelo de autoensamblaje supramolecular.



- Caracterizar en solución los CI entre los profármacos **13a-c** con la β -CD a través de experimento de RMN de efecto Overhauser (NOESY)
- Caracterizar los CIs profármacos **13a-c** con la β -CD en estado sólido mediante análisis térmico de DSC/TGA.
- Determinar el tamaño de partícula en solución de los CI entre los profármacos **13a-c** con la β -CD mediante experimento de Dispersión Dinámica de Luz (DLS).
- Realizar la mono-modificación de un hidroxilo por un grupo azida de la cara primaria de la β -CD.
- Sintetizar un dendrímero PAMAM decorado con cuatro unidades de (PAMAM-tetra- β -CD) a través de una reacción *click*.



- Llevar a cabo el autoensamblaje de los profármacos **13a-c** con el dendrímero PAMAM-tetra- β -CD y demostrar la formación de CI mediante espectroscopía de RMN-2D NOESY.

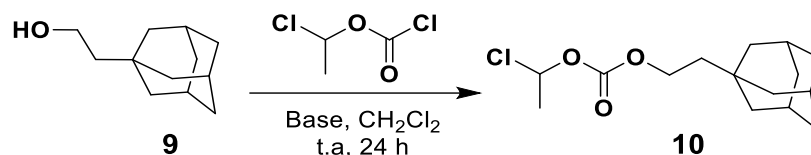


- Determinar el tamaño de partícula en solución de los CIs profármacos **13a-c** con el dendrímero PAMAM-tetra- β -CD mediante experimentos de DLS.
- Caracterizar los CIs profármacos **13a-c** con el dendrímero PAMAM-tetra- β -CD en estado sólido mediante análisis térmico de DSC/TGA.

CAPÍTULO V. DISEÑO Y SÍNTESIS DE PROFÁRMACOS β -LACTÁMICOS DE TIPO PENICILINA Y SU CINÉTICA DE HIDRÓLISIS.

5.1 Síntesis de los profármacos β -lactámicos 13a-b

La síntesis del *linker* inicia con la obtención del carbonato de 2-adamantan-1-il-etilo (1-cloroetilo) **10**, en esta transformación se hace reaccionar el 1-adamantanetanol **9** con el cloroformiato de 1-cloroetilo en presencia de una base, empleando CH_2Cl_2 anhidro, bajo atmósfera inerte a temperatura ambiente durante 24 horas para obtener el compuesto **10** con rendimientos químicos superiores al 90% (**Esquema 6**).



Esquema 6. Síntesis del carbonato de 2-adamantan-1-il-etilo (1-cloroetilo) **10**.

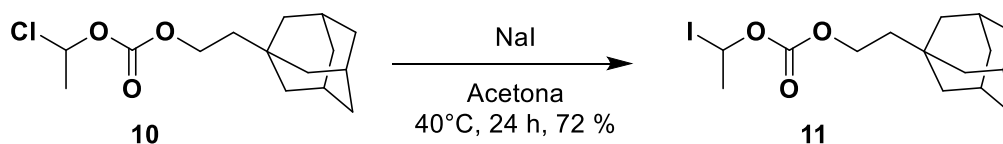
Por otra parte, la base empleada para la síntesis de carbonato de 2-adamantan-1-il-etilo (1-cloroetilo) **10** y los rendimientos correspondientes obtenidos para cada base evaluada: DIPEA (entrada 1, **Tabla 1**) y Et_3N (entrada 2, **Tabla 1**) destaca que ambas bases son altamente efectivas, aunque DIPEA ofrece un rendimiento marginalmente superior. Esto sugiere que DIPEA es la base preferida en las condiciones experimentales descritas (**Tabla 1**).

Tabla 1.

Bases utilizadas para la reacción de síntesis del carbonato de 2-adamantan-1-il-etilo (1-cloroetilo).

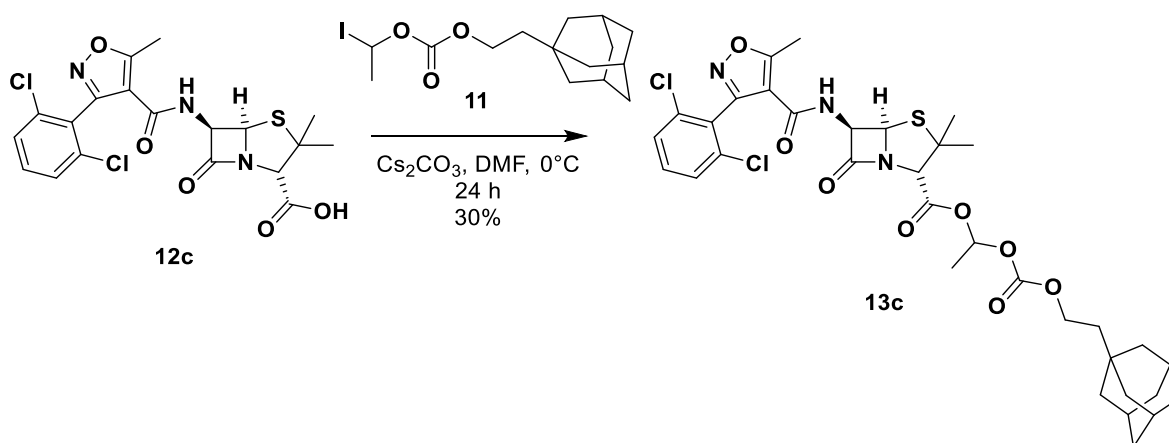
Entrada	Base	%
1	DIPEA	98
2	Et_3N	94.7

Una vez obtenido el carbonato de 2-adamantan-1-il-etilo (1-cloroetilo) **10**, se trató de reproducir la ruta síntesis empleada en los profármacos de Meropenem,²³ sometiendo el carbonato de 2-adamantan-1-il-etilo (1-cloroetilo) **10** a las condiciones de la reacción de *Finkelstein*, empleando NaI en acetona durante 24 horas a 40°C , para así obtener al carbonato de 2-adamantan-1-il-etilo (1-yodoetilo) **11** vía una reacción $\text{S}_\text{N}2$ con un rendimiento del 72 % (**Esquema 7**).



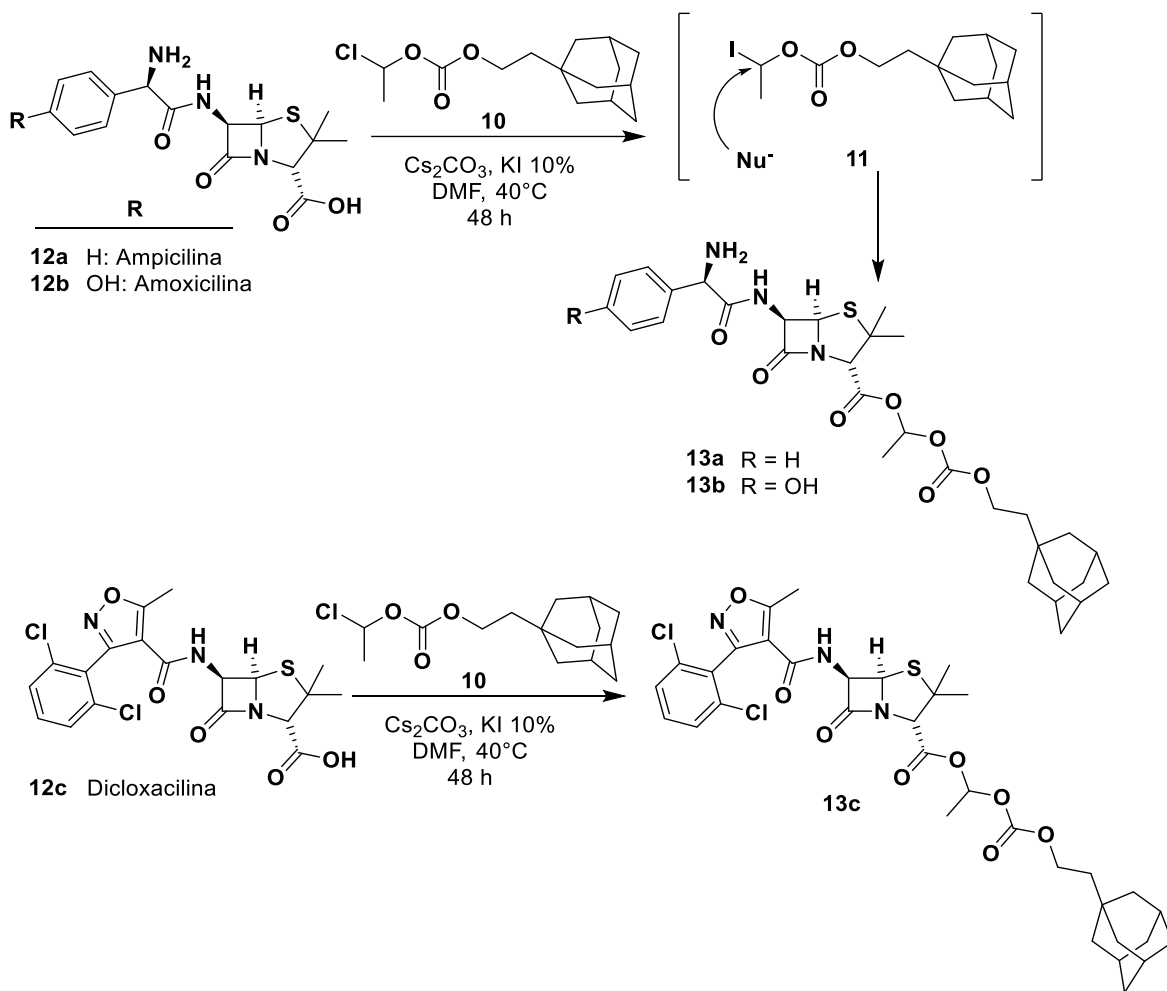
Esquema 7. Síntesis del carbonato de 2-adamantan-1-il-etilo(1-yodoetilo) **11**.

Sin embargo, dicha reacción generaba múltiples subproductos, de manera que la purificación por extracciones y posterior cromatografía en columna resultaba en múltiples impurezas observadas mediante cromatografía en capa fina (TLC), lo que sugiere una descomposición prematura de la molécula **11** y una limitada estabilidad. Por lo cual, al continuar con la ruta de síntesis de acuerdo con las condiciones reportadas para la síntesis de los profármacos de Meropenem **7**, el fármaco β -lactámico de dicloxacilina (**12c**) comercialmente disponible, se hizo reaccionar con el 2-adamantan-1-il-etilo (1-yodoetilo) **11** en presencia de Cs_2CO_3 en DMF a 0 °C durante 24 horas, de igual forma, esta reacción transcurría con la generación de múltiples subproductos que impedían una adecuada purificación por extracciones y posterior cromatografía en columna. Sin embargo, sí es posible acceder al profármaco de dicloxacilina **13c** en pocas cantidades y algunas impurezas siguiendo esta metodología (**Esquema 8**).



Esquema 8. Síntesis del profármaco de Dicloxacilina empleando el 1-yodo-etil, etiladamantano carbonato **11**.

Por lo tanto, para optimizar la ruta de síntesis de los profármacos, optamos por generar la formación del 2-adamantan-1-il-etilo (1-yodoetilo) **11** *in situ* empleando KI en cantidades catalíticas respecto al carbonato de 2-adamantan-1-il-etilo (1-cloroetilo) **10** para generar el yodo derivado **11**, que constituye un grupo saliente más eficaz.⁵⁷ En este sentido, la reacción de esterificación entre el carbonato de 2-adamantan-1-il-etilo (1-cloroetilo) **10** y los fármacos β -lactámicos **12a-c**, se llevó a cabo haciendo reaccionar Cs_2CO_3 (4.0 eq) y KI al 10%, empleando DMF a 40 °C durante 48 horas, para obtener los profármacos β -lactámicos correspondientes **13a-c** con rendimientos aceptables (**Tabla 2**). Las condiciones de reacción transcurrieron limpiamente, ya que no se observó la generación de subproductos no deseados gracias al monitoreo por TLC, a diferencia de las metodologías previamente descritas en las que se aisló el yodo derivado. Además, no se observa competencia nucleofílica del grupo amino de los antibióticos β -lactámicos **13a-b**, atribuimos este comportamiento a los equivalentes de Cs_2CO_3 que genera el grupo carboxilato, el cual se estabiliza por resonancia, cuya reactividad es como un nucleófilo fuerte, que ataca a un centro electrofílico duro, como el carbono del intermediario yodo derivado **11** (**Esquema 9**).



Esquema 9. Síntesis de profármacos β -lactámicos **13a-c**.

Por otro lado, presentamos los rendimientos obtenidos para la síntesis de los profármacos β -lactámicos **13a-c** mediante la reacción de esterificación con un tiempo de reacción fijo de 48 horas. Los datos reflejan las diferencias en reactividad y eficiencia dependiendo de la naturaleza del sustituyente R de los antibióticos β -lactámicos **12a-c** (entradas 1, 2) en los reactivos de partida, lo que influye en el rendimiento final, esto pone en evidencia la diferencia entre las entradas 1 y 2 (**Tabla 2**). Sin embargo, el profármaco **12b** mostró el rendimiento más bajo, debido a la presencia del grupo hidroxilo ($R = OH$), el grupo hidroxilo puede generar interacciones competitivas, afectando la disponibilidad del grupo carboxilato para funcionar como nucleófilo. En conclusión, los resultados demuestran que la naturaleza del sustituyente R en el antibiótico β -lactámico tiene un impacto significativo en los rendimientos de la reacción. La simplicidad estructural del grupo $R=H$ en el fármaco β -lactámico **12a** favorece una mayor eficiencia, mientras que la presencia de un sustituyente $R= OH$ adicional en el fármaco **12b** introduce efectos electrónicos y estéricos que pueden limitar parcialmente la formación de los profármacos deseados **13a-b**.^{58, 59}

Tabla 2. Rendimientos de reacción para profármacos β -lactámicos.

Entrada	Compuesto	Rendimiento %
1	13a	85
2	13b	50
3	13c	80

5.2 Caracterización de los profármacos **13a-c** por RMN de ^1H

La caracterización por ^1H -RMN (500 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) de los profármacos **13a-c** muestran las señales características asociadas a los protones esperados de acuerdo con los diseños planteados. Los profármacos **13a** y **13b** presentan las señales de los protones aromáticos etiquetados como H-2'' hasta H-6'' que aparecen entre 6.7 y 7.6 ppm con un patrón de multiplete que evidencia el acoplamiento no definido entre los protones vecinos en el anillo aromático, pues estas señales suelen mostrar multiplicidades poco definidas debido al solapamiento parcial entre protones aromáticos que poseen acoplamientos similares con una J alrededor de 7-9 Hz para el profármaco **13a**, mientras que para el profármaco **13b** que se encuentra sustituido en posición *para*, suele tener una J entre 7-10 Hz. Para el profármaco **13c** se observan 3 señales etiquetadas como H-3'' hasta H-5'' correspondientes con un patrón de multiplete de los protones aromáticos entre 7.5 a 7.8 ppm.

Por otra parte, las señales etiquetadas como H-2 hasta H-6 pertenecen a los protones del anillo β -lactámico para los profármacos **13a-c**, mientras que las señales etiquetadas como H-3''' y H-2''' pertenecen al enlace di-ester-carbonato para los 3 profármacos, finalmente las señales etiquetadas como H- β , H- γ y H- α pertenecen al anillo de Ad de los 3 profármacos **13a-c**. Las señales etiquetadas como H-5''' y H-6''' del etilo que une el ester-carbonato con el anillo de Ad para los 3 profármacos (**Figura 22**). Sin embargo, se observan multiplicidades poco definidas para los profármacos **13a** y **13b**, dicho comportamiento se atribuye a restricciones conformacionales de las estructuras, que originan acoplamientos no equivalentes y señales múltiples, además del intercambio entre los grupos $-\text{NH}_2$ y $-\text{OH}$ con el $\text{DMSO}-d_6$ causando el ensanchamiento de las señales, de manera que impide que las señales resulten difíciles de resolver.

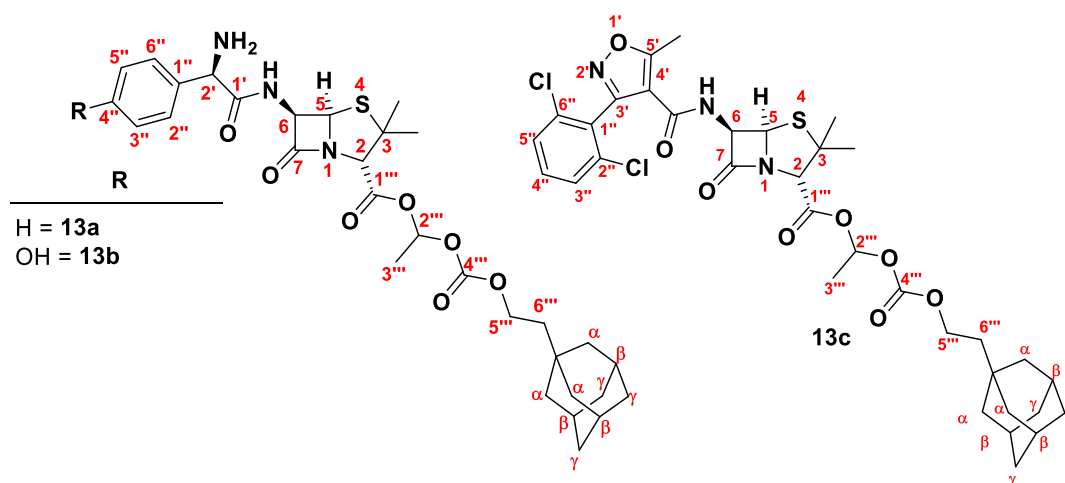


Figura 21. Asignación numérica de los protones presentes en los profármacos **13a-c**.

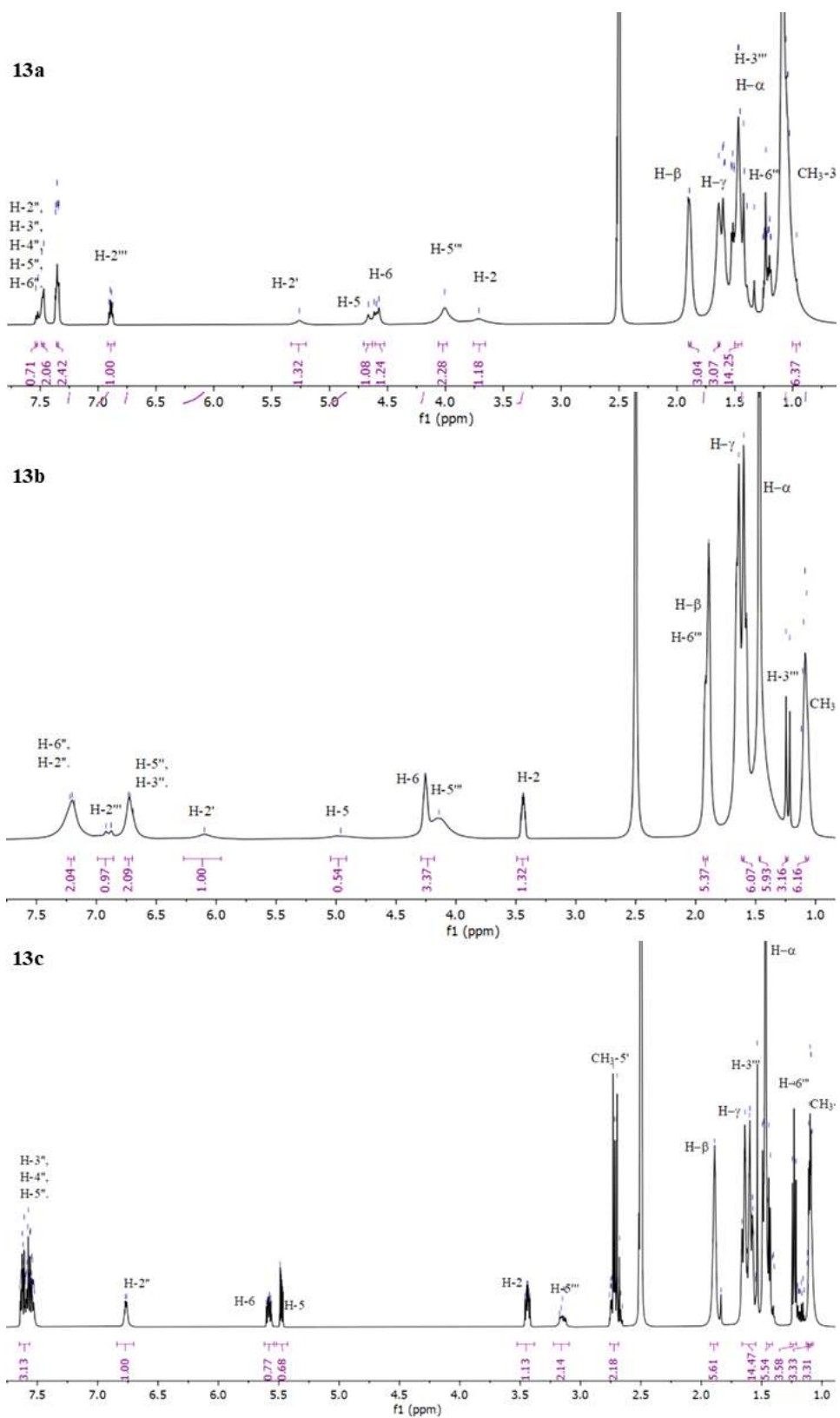


Figura 22. Comparación de espectros de RMN de ^1H (500 MHz, DMSO- d_6) de los profármacos **13a-c**.

En los tres compuestos obtenidos como profármacos **13a-c**, los desplazamientos químicos, multiplicidades e integrales observados en la RMN de ^1H (500 MHz, en $\text{DMSO-}d_6$) concuerdan con las estructuras esperadas y conservan íntegras las señales correspondientes al anillo β -lactámico de la penicilina, lo que confirma la correcta obtención de los profármacos **13a-c**.

5.3 Espectrometría de masas de los profármacos **13a-c**

La caracterización por espectrometría de masas de los profármacos **13a-c** se llevó a cabo empleando la técnica de ionización de Análisis Directo en Tiempo Real, por sus siglas en inglés DART (*Direct Analysis in Real Time*) en modo positivo y en alta resolución (HRMS). Pues, la técnica DART, es una técnica de ionización que permite analizar muestras de manera directa, con mínima o ninguna preparación, y bajo condiciones atmosféricas, En este sentido, el peso molecular de **13a** calculado es: 599.74 g/mol, para **13b** 615.74 g/mol y 720.65 g/mol para **13c**. Los iones moleculares $[\text{M} + \text{H}]^+$ esperados para los profármacos son: m/z 600.26 para **13a**, para **13b** una relación m/z 616.26 y finalmente para el profármaco **13c** una m/z de 719.18. Los iones moleculares $[\text{M} + \text{H}]^+$ no se observan directamente, sin embargo, se observan aductos moleculares, encontrando para el profármaco **13a** es m/z 602.33 $[\text{M} + 3]^+$ resaltado en el cuadro rojo. Mientras que para el profármaco **13b** la relación m/z 618.33 $[\text{M} + 3]^+$. Finalmente, la relación m/z encontrada para el profármaco **13c** es m/z 722.26. El hecho de que los 3 profármacos aparezcan como $[\text{M} + 3]^+$ sugiere que los picos observados $[\text{M} + 3]^+$ no son iones moleculares simples, sino una contribución isotópica de ^{13}C y ^{34}S . La ausencia aparente del ion $[\text{M} + 1]^+$ se debe al solapamiento espectral y a la naturaleza de la ionización DART que favorece clústeres, fragmentación leve y congestión isotópica, pues en DART el pico mono isotópico no siempre es el más intenso así que el ion $[\text{M} + 1]^+$ queda escondido bajo el ruido o mezclado.^{60, 61, 62} (**Figura 23**).

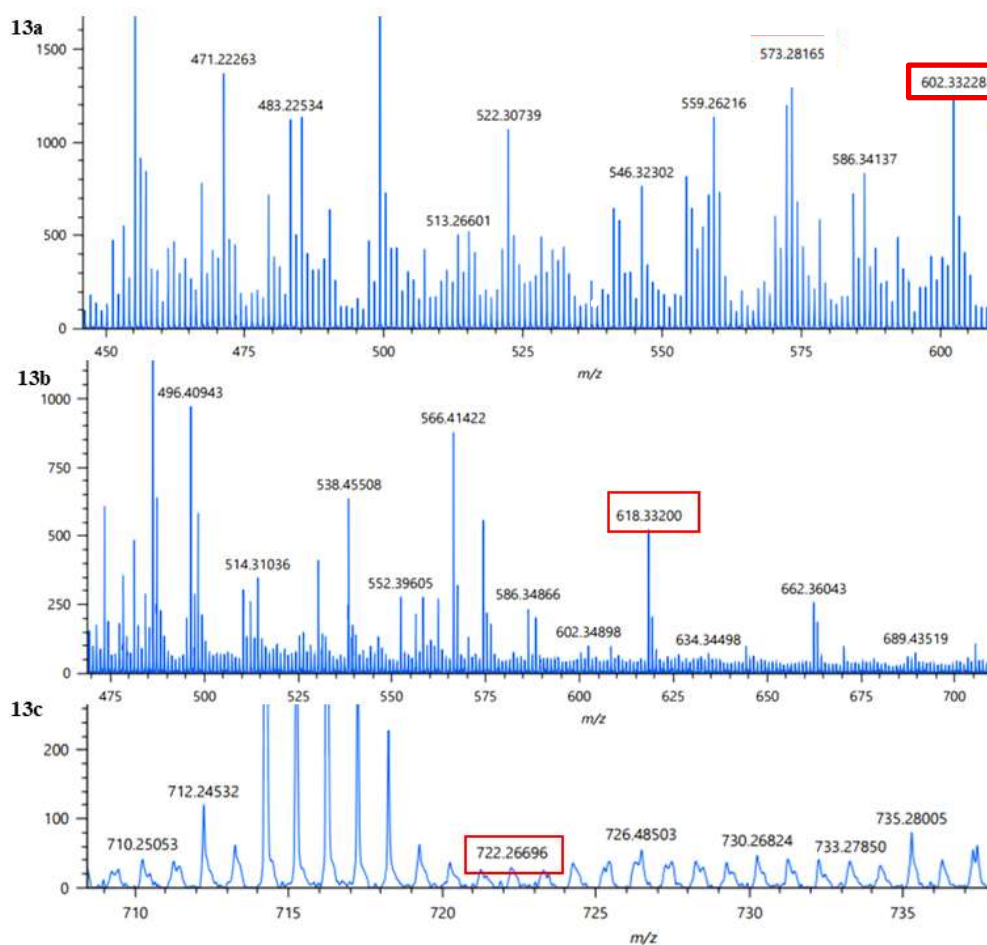


Figura 23. Espectro de masas de alta resolución (HRMS) mediante técnica DART⁺ de los profármacos **13a-c**.

Adicionalmente, también se realizó un análisis de espectrometría de masas en baja resolución (LRMS) empleando nuevamente la técnica DART en modo positivo, de esta manera los iones moleculares esperados $[M + H]^+$ para los profármacos **13a-c** son: m/z 600, m/z 616 y m/z 719 respectivamente. En este sentido, los iones moleculares encontrados para el profármaco **13a** son m/z 600 para un ion $[M + H]^+$ y m/z 602 correspondiente a un ion $[M + 3H]^+$ resaltados en los cuadros rojos. Por otra parte, para el profármaco **13b** los iones observados son m/z 616 correspondiente a $[M + H]^+$ y m/z 618 correspondiente a $[M + 3H]^+$. Para el profármaco **13c** se encuentra un m/z 758 correspondiente a un aducto $[M + K]^+$ (Figura 24).

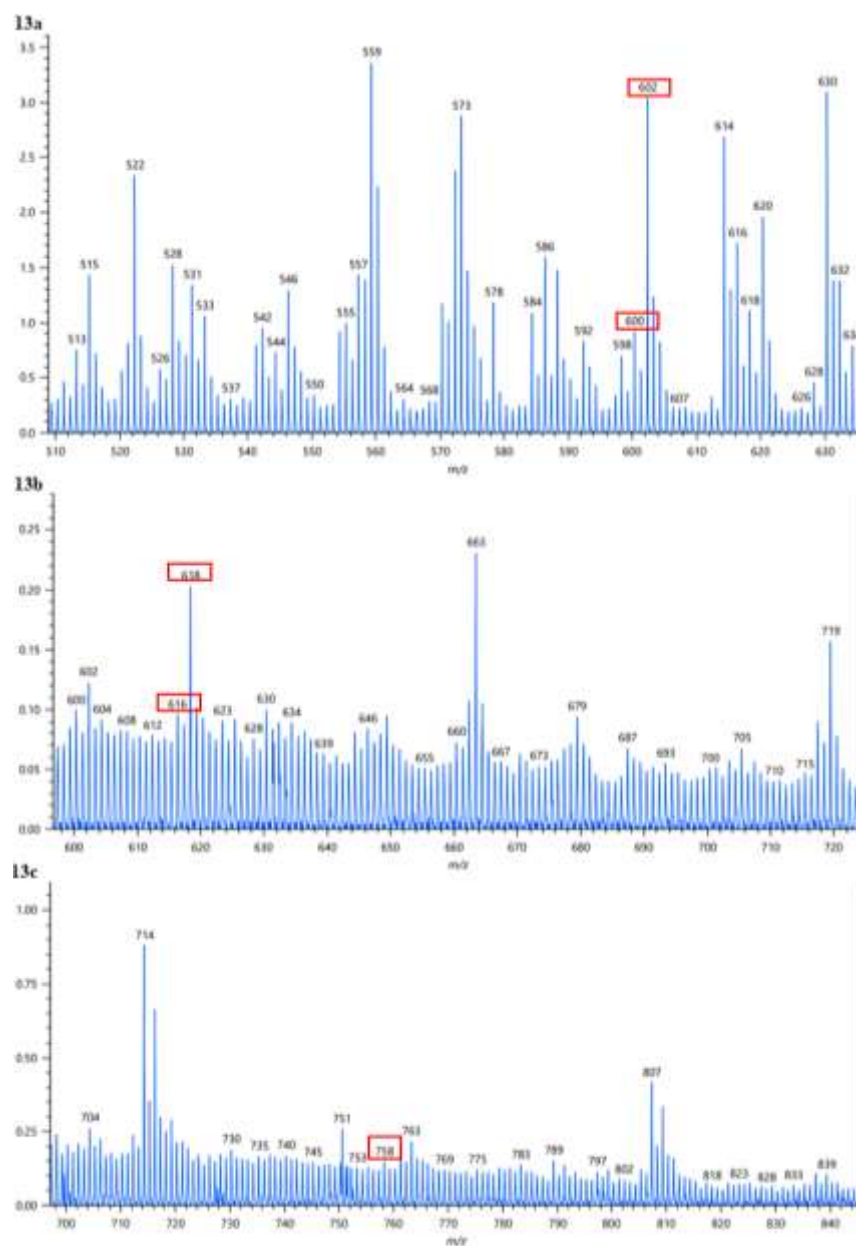


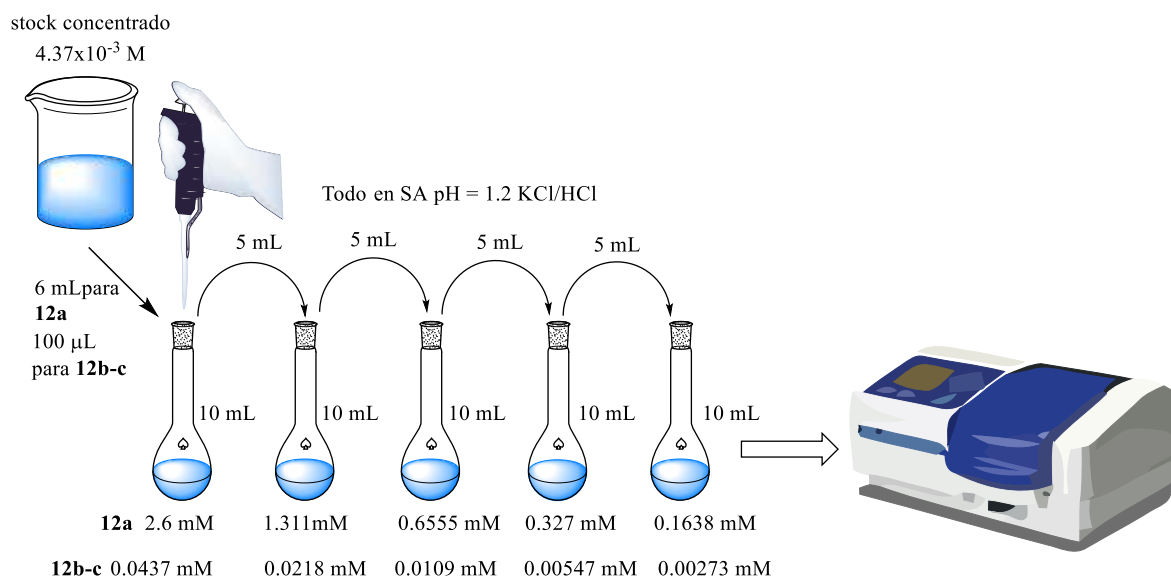
Figura 24. Espectro de masas de baja resolución (LRMS) mediante técnica DART⁺ de los profármacos **13a-c**.

De esta manera se demuestra la existencia de los profármacos **13a-c** mediante espectrometría de masas como iones $[M + 3]^+$ en alta resolución (HRMS) y de manera secundaria en espectrometría de masas de baja resolución (LRMS) se observan los iones $[M + 1]^+$, habiendo empleado la técnica DART en modo positivo.

5.4 Determinación de la cinética de hidrólisis *in vitro* de los profármacos 13a-c

5.4.1 Curvas de calibración de antibióticos β -lactámicos 12a-c

La construcción de las curvas de calibración por espectrofotometría de UV-Vis de los antibióticos β -lactámicos **12a-c** se diseñó cuidadosamente con el objetivo de garantizar la linealidad, reproducibilidad y estabilidad química de los analitos en condiciones de pH ácido-semejantes a las que se encuentran en el jugo gástrico del estómago. En este sentido, a partir de una solución stock concentrada (4.37×10^{-3} M), se realizaron diluciones volumétricas precisas en matraces aforados de 10.0 mL, ajustando los volúmenes iniciales de acuerdo con la concentración esperada de cada dilución, empleando 6 mL para el antibiótico **12a** y únicamente 100 μ L para **12b** y **12c**, lo que refleja diferencias significativas en sus coeficientes de absorptividad molar. Todas las diluciones subsecuentes se realizaron en un sistema ácido (pH = 1.2, solución acusa KCl/HCl), condición seleccionada estratégicamente para asegurar la estabilidad del anillo β -Lactámico y evitar procesos de hidrólisis que podrían alterar la respuesta espectroscópica, utilizando agua desionizada para la preparación de cada disolución. Así a partir de la disolución de 2.6 mM (para **12a**) y 0.0437 mM (**12b** y **12c**) se efectuaron diluciones seriadas sucesivas, es decir, tomando 5 mL y aforando subsecuentemente a 10 mL, obteniendo rangos de concentración bien definidos y decrecientes, comprendidos entre 2.6 mM y 0.1638 mM para el antibiótico **12a**, y entre 0.0437 y 0.00273 mM para los antibióticos **12b-c** (Esquema 10).



Esquema 10. Representación esquemática para la preparación de las soluciones para las curvas de calibración de los antibióticos **12a-c**.

Este procedimiento permitió cubrir un intervalo amplio de concentraciones dentro del rango lineal de la ley de Beer-Lambert, condición indispensable para la validación analítica del método. Finalmente, las soluciones preparadas fueron analizadas mediante espectrofotometría UV-Vis, garantizando que las mediciones se realizaran bajo condiciones controladas y comparables, lo que permitió establecer curvas de calibración robustas,

confiables y reproducibles para la cuantificación de los antibióticos β -lactámicos comercialmente disponibles **12a-c**.

El espectro de absorción UV-vis del antibiótico **12a** (Ampicilina), registrado en un intervalo de $\lambda = 230$ a 280 nm y a diferentes concentraciones comprendidas entre 2.6 mM y 0.0819 mM, evidencia un comportamiento espectroscópico consistente con la naturaleza estructural del antibiótico β -lactámico, pues en todas las mediciones se observa que la región comprendida entre 250 y 270 nm se distinguen señales de menor intensidad y ligeras inflexiones, más evidentes a concentraciones altas, las cuales pueden asociarse a transiciones electrónicas menos favorecidas asociadas al grupo fenilo. En el espectro se encuentra una banda de absorción secundaria en 257 nm, consistente en la FARMACOPEA de los Estados Unidos Mexicanos en su versión de 2021 la cual recomienda para la cuantificación de ampicilina (**Figura 25**).

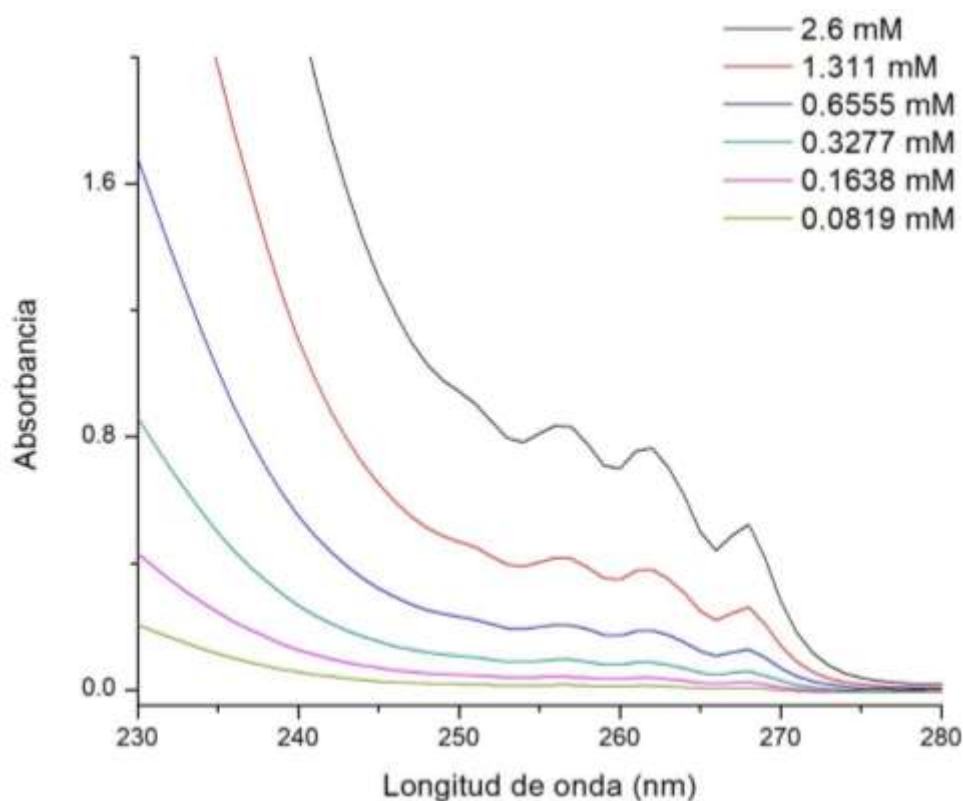


Figura 25. Espectro UV-vis del antibiótico **12a** para curva de calibración.

Conforme la concentración del analito disminuye, se observa una reducción proporcional de la intensidad de absorbancia en todo el intervalo espectral, manteniéndose la forma general de los espectros, lo que indica ausencia de cambios estructurales o procesos de agregación y confirma la estabilidad del compuesto bajo las condiciones experimentales empleadas.

El espectro de absorción UV-vis de la Amoxicilina **12b**, registrado en el intervalo de 190 a 400 nm y para concentraciones comprendidas entre 0.0437 mM y 0.00273 mM, muestra un perfil espectroscópico característico de los antibióticos β -lactámicos que poseen un anillo

aromático sustituido y múltiples grupos funcionales. En todas las mediciones se observa una banda de absorción intensa, con un máximo pronunciado en de 205 nm, atribuible principalmente a transiciones electrónicas de alta energía del tipo $\pi \rightarrow \pi^*$ asociadas al anillo aromático y a los sistemas carbonílicos presentes tanto en el anillo β -lactámico como en la cadena lateral (amida). Adicionalmente, se distingue una banda secundaria de menor intensidad en la región de 229 nm, la cual puede relacionarse con transiciones $n \rightarrow \pi^*$ de los grupos carbonilo y con contribuciones del sustituyente fenólico característico de la amoxicilina, cuya presencia confiere un comportamiento espectral ligeramente diferente respecto a otros β -lactámicos como la ampicilina **12a** vista anteriormente⁶³ (Figura 26).

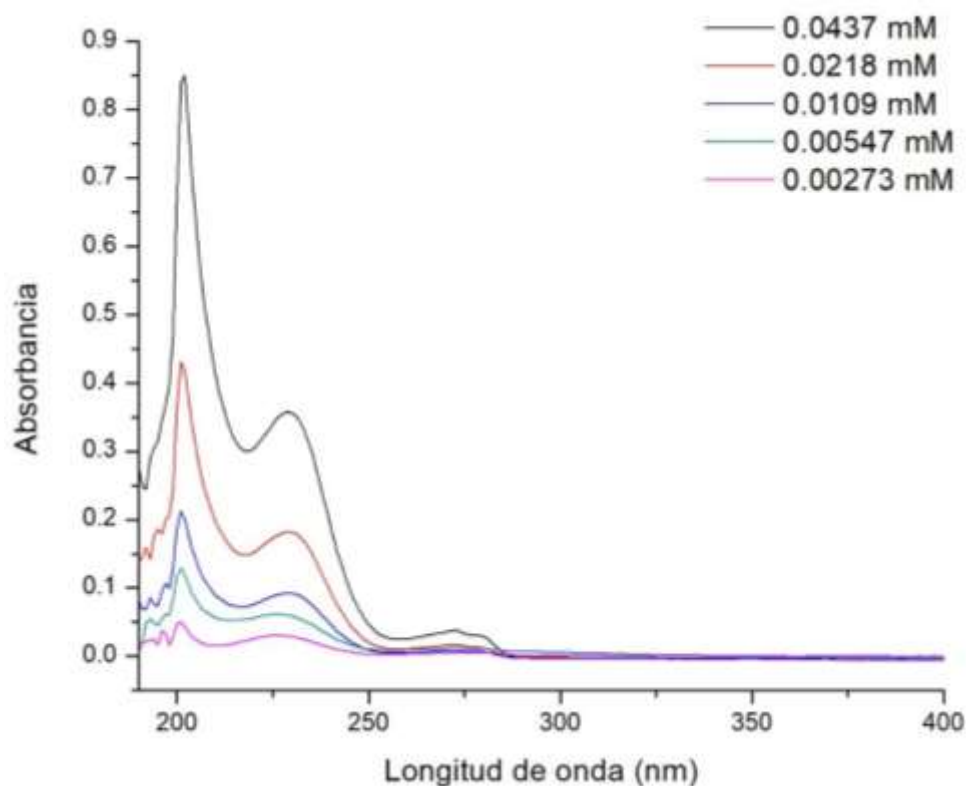


Figura 26. Espectro UV-vis del antibiótico **12b** para curva de calibración.

El espectro de absorción UV-Vis de la dicloxacilina **12c**, registrado en el intervalo entre 190 a 400 nm y para concentraciones comprendidas entre 0.00273 y 0.0437 mM, presenta un comportamiento espectroscópico distintivo que refleja la complejidad estructural de este antibiótico β -lactámico. En todas las mediciones, se observa una banda de absorción intensa, con un máximo pronunciado alrededor de 200–205 nm, de igual forma, atribuible principalmente a transiciones electrónicas de tipo $\pi \rightarrow \pi^*$ asociadas al sistema aromático con 2 átomos de cloro y a los grupos carbonilo presentes tanto en el anillo β -lactámico como en la función amida de la penicilina. La elevada intensidad de esta banda, particularmente a las concentraciones más altas, es consistente con la presencia de sustituyentes halogenados en el anillo aromático, los cuales incrementan el carácter cromofórico del antibiótico y favorecen

transiciones electrónicas de alta energía. En este sentido, para la cuantificación de la dicloxacilina **12c** según la FARMACOPEA de los Estados Unidos Mexicanos de 2021 recomienda utilizar la longitud de onda de 229 nm, consistente con lo que se observa en el espectro de UV-vis de la dicloxacilina **12c** (Figura 27).

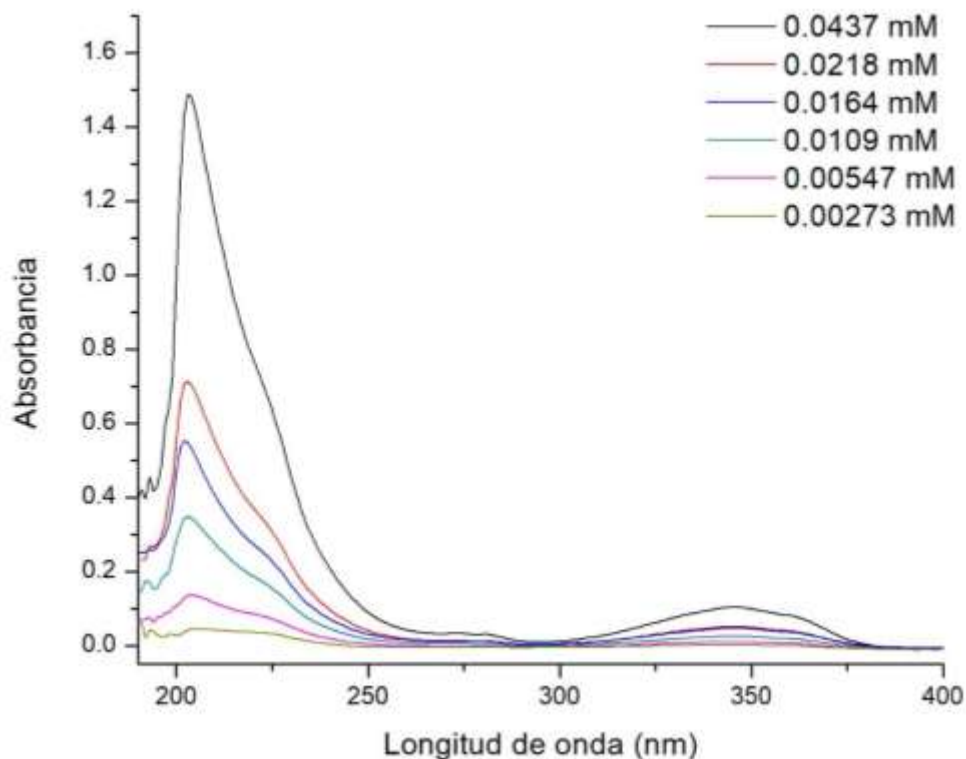


Figura 27. Espectro UV-vis del antibiótico **12c** para curva de calibración.

En conjunto, el perfil espectroscópico observado valida el uso de la espectrofotometría UV-vis como una técnica analítica sensible y reproducible para la cuantificación de antibióticos β -lactámicos comercialmente disponibles en medio ácido (pH= 1.2, KCl/HCl), proporcionando una base sólida para la construcción de curvas de calibración y su aplicación posterior en estudios de estabilidad, cinética de hidrólisis o evaluación de sistemas de liberación controlada.

Con base en las curvas de calibración para detección de los antibióticos **12a-c**, se puede obtener una ecuación de la recta a partir de las absorbancias observadas en las longitudes de onda seleccionadas para cada antibiótico:

$$\begin{aligned} (1) \quad A &= \varepsilon C l \\ (2) \quad A &= \varepsilon C \\ (3) \quad \frac{A}{\varepsilon} &= C \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} (4) \quad y &= mx + b \\ (5) \quad m &= \frac{y - b}{x} \end{aligned}$$

Con base en las absorbancias registradas en los máximos de absorción de cada antibiótico (257 nm para **12a**, 229 nm para **12b** y 225 nm para **12c**) en el espectrofotómetro de UV-vis,

se construyen las siguientes curvas de calibración, siendo **A)** para ampicilina **12a** y teniendo un coeficiente de correlación de 0.9991 (R^2), mientras que **B)** muestra a la amoxicilina **12b**, que muestra un coeficiente de correlación igual a 0.999 y **C)** corresponde al antibiótico de dicloxacilina **12c** con un R^2 de 0.9982, cabe señalar que este experimento se realizó por triplicado (**Figura 28**).

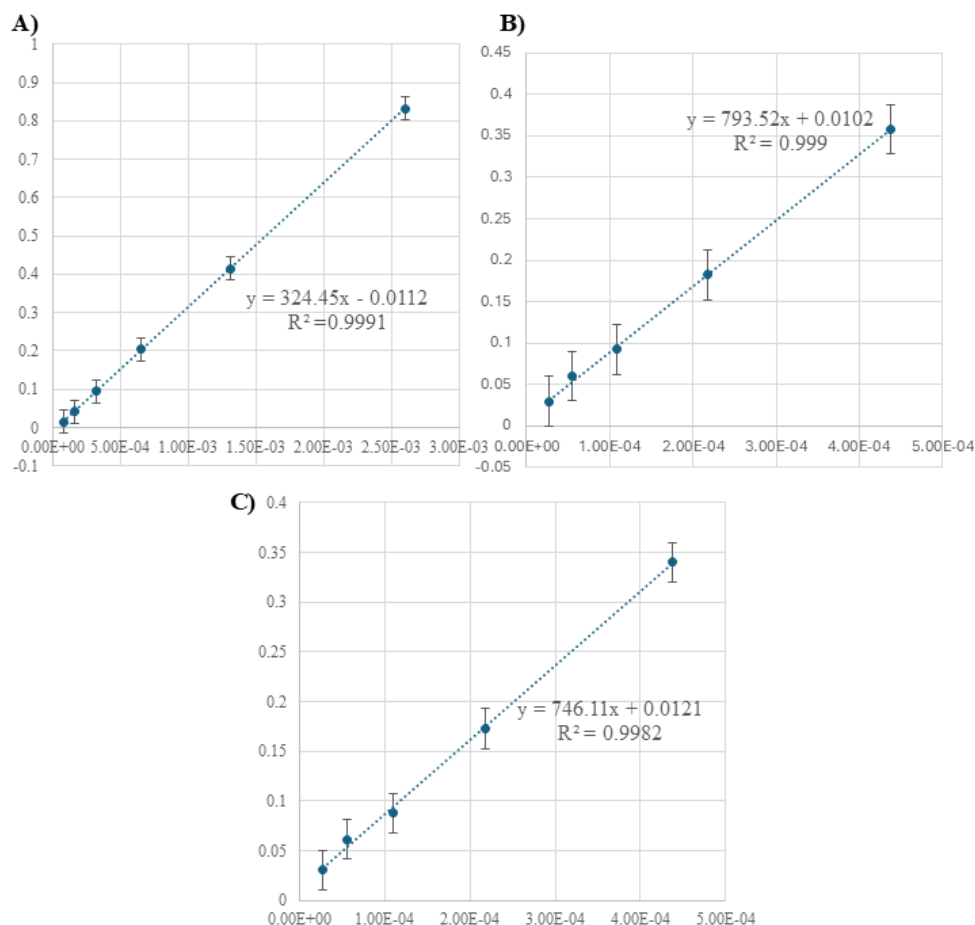


Figura 28. Curvas de calibración de los antibióticos **12a-c**.

De manera que las ecuaciones de la recta de cada antibiótico permiten cuantificar a los antibióticos con base en las siguientes ecuaciones:

Para el antibiótico **12a** (ampicilina):

$$C = \frac{A_{257\text{ nm}} + 0.0112}{324.45}$$

Para el antibiótico **12b** (amoxicilina):

$$C = \frac{A_{228\text{ nm}} - 0.0102}{793.52}$$

Para el antibiótico **12c** (dicloxacilina):

$$C = \frac{A_{225\text{ nm}} - 0.0121}{746.11}$$

Dichas ecuaciones de la recta son imprescindibles para cuantificar a los antibióticos **12a-c** en la consecuente cinética de hidrólisis de los profármacos **13a-c**.

5.4.2 Cinética de hidrólisis de los profármacos **13a-c**

La cinética de hidrólisis a pH ácido de los profármacos β -lactámicos **13a-c** se diseñó para simular el entorno del jugo gástrico estomacal (pH de 1 a 3).^{64, 65, 66, 67} Los profármacos **13a-c** se evaluaron en una solución buffer KCl/HCl (pH = 1.2) a 37 °C $\pm$ 0.5 °C durante 72 horas mediante monitoreo espectrofotométrico UV-vis del producto de hidrólisis de antibióticos liberado, es decir, monitoreando la concentración mM del producto de hidrólisis de los fármacos **12a-c** a intervalos de tiempo de 1, 3, 5, 7, 9, 12, 24, 48 y 72 horas. Las longitudes de onda utilizadas para cada compuesto corresponden a 257 nm para **13a**, 229 nm para **13b** y 225 nm para **13c**. En este sentido, la cinética de hidrólisis de los profármacos **13a-c** muestra diferencias en la velocidad y extensión de la hidrólisis; las primeras 10 horas a pH = 1.2 los profármacos **13a-c** mostraron una liberación gradual del antibiótico, con concentraciones inferiores a 0.35 mM. Sin embargo, el análisis de las primeras 10 horas sugiere una liberación lenta de los fármacos **12a-c**, mientras que alrededor de las 12 horas **13a** alcanza concentraciones cercanas a 0.325 mM, **13b** alrededor de 0.1 mM y **13c** alcanza una concentración de 0.45 mM. En puntos de tiempo intermedios (12 – 24 horas), **13a** exhibe un aumento sostenido y casi lineal en la concentración de antibiótico liberado alcanzando aproximadamente 0.7 mM a las 24 h, superando progresivamente a **12b** que alcanza alrededor de 0.2 mM, lo que sugiere una hidrólisis más lenta pero continua y **13c** alcanza 0.55 mM. Durante períodos prolongados (24 – 72 h), las diferencias se acentúan notablemente; **13a** alcanza concentraciones superiores a 2.5 mM al final del ensayo, mientras que **13b** mantiene el perfil diferente, con concentraciones finales cercanas a 0.75 mM, y **13c** continúa aumentando moderadamente hasta aproximadamente 0.9 mM. Estos resultados demuestran que la cinética de hidrólisis depende en gran medida de la estructura del profármaco y sugieren un perfil prolongado para los tres profármacos, con un orden general de velocidad de hidrólisis de **13a** > **13c** > **13b**, lo que tiene implicaciones directas para la estabilidad gástrica y la posible hidrólisis controlada del antibiótico activo tras su administración oral (véase la **figura 29**).

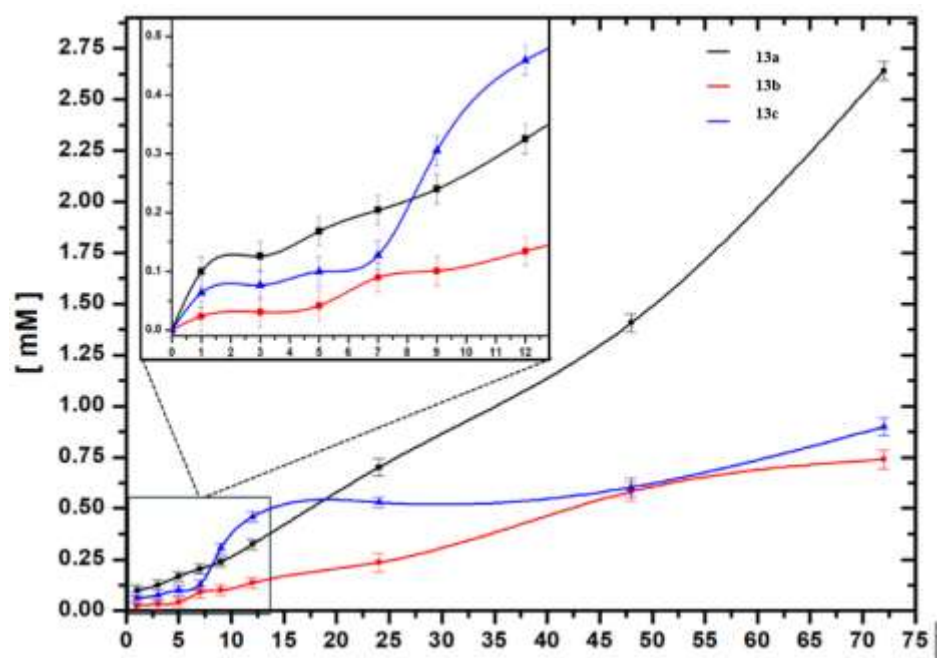
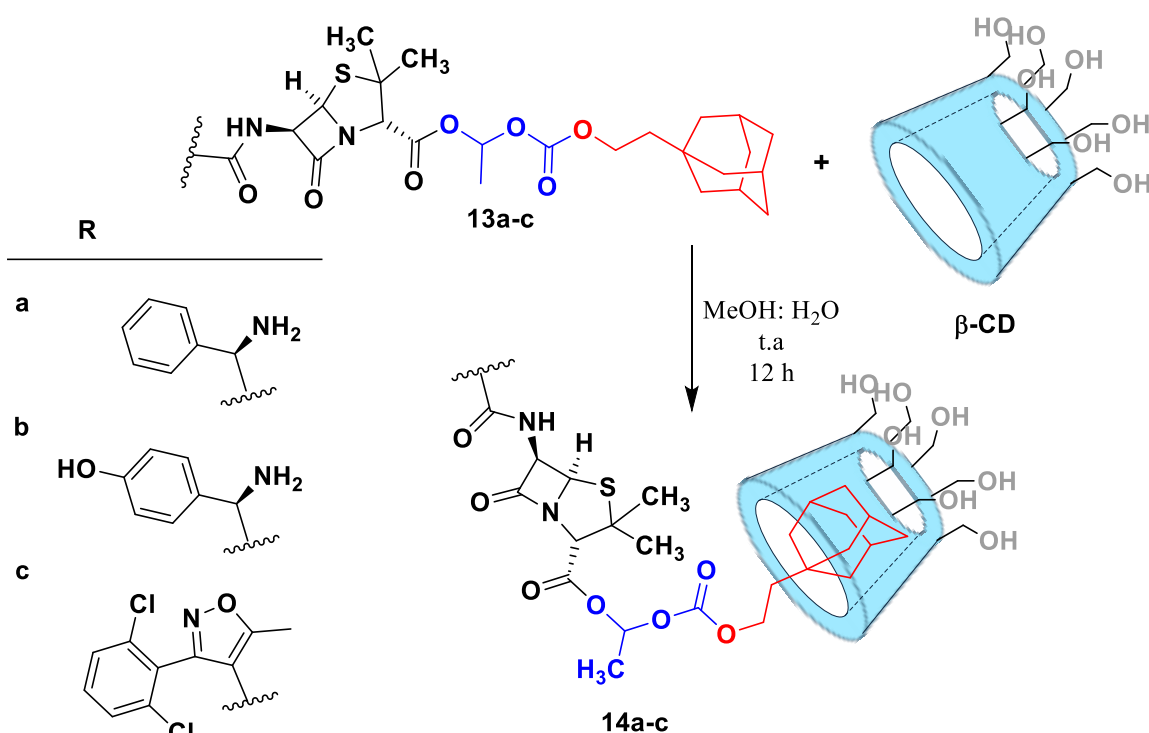


Figura 29. Cinética de hidrólisis de los profármacos **13a-c** (pH = 1.2 KCl/ HCl).

**CAPÍTULO VI. FORMACIÓN DE COMPLEJOS DE INCLUSIÓN DE LOS
PROFÁRMACOS β -LACTÁMICOS CON β -CICLODEXTRINA.**

6.1 Formación de los complejos de inclusión β -CD/Profármacos **13a-c**

Una vez obtenidos y caracterizados los profármacos **13a-c**, se realizó la formación de los complejos de inclusión (CI), estos se autoensamblaron a través de la estrategia de cosolvente- evaporación, disolviendo cada profármaco β -lactámico **13a-c** en 1 mL de MeOH para ser añadidos a una disolución acuosa de β -CD en cantidades equimolares (1:1) a temperatura ambiente. Posteriormente se dejaron en agitación durante 12 horas, así la mezcla resultante fue liofilizada para obtener a los CIs **14a-c** en cantidades cuantitativas, cabe señalar que los profármacos fueron disueltos en MeOH debido a que son insolubles en agua, de esta manera la interacción entre el huésped y el anfitrión se lleva a cabo por transferencia de fase para formar los CIs con la β -CD vía autoensamblaje (**Esquema 11**).



Esquema 11. Autoensamblaje de los profármacos β -lactámicos **13a-c** con β -CD para formar los CI **14a-c**.

De esta manera se obtuvieron los CI **14a-c** a través del autoensamblaje supramolecular en cantidades cuantitativas, una vez sometidas al proceso de liofilización se procedió a realizar su análisis mediante Resonancia Magnética Nuclear de dos dimensiones.

6.2 Análisis de la formación de los CIs entre los profármacos 13a-c/ β -CD por RMN de efecto Overhauser (NOESY)

La caracterización de los CI se llevó a cabo empleando el experimento bidimensional de RMN de efecto Overhauser (NOESY), este experimento permite evidenciar si existen correlaciones espaciales entre protones que se encuentran en la cavidad interna de la β -CD asignados como H-3, H-5 y los protones del residuo de Ad presente en cada profármaco, etiquetados como H- β , H- γ y H- α . En el espectro NOESY del CI **14a** en la **Figura 31** se observan señales de correlación entre 2.10-3.96 ppm de los protones H-3 y H-5 de la cavidad interna de la β -CD correlacionando con los protones H- β del adamantano, además los protones H- γ y H- α asignados al sistema alifático del Ad muestran señales de correlación entre 1.74-4.03 ppm y 1.64-3.96 ppm respectivamente. Así, estas correlaciones espaciales NOE, indican una proximidad espacial menor a 5 Å entre los protones del anillo de Ad del profármaco **13a** y los protones de la cavidad interna de la β -CD, lo cual es corroborado la inserción del fragmento de AD del profármaco **13a** dentro de la cavidad hidrofóbica de la cavidad de la β -CD. Además, la ausencia de correlaciones entre los protones del Ad y los protones externos de la β -CD (H-4 y H-2) sugiere que la orientación del profármaco **13a** deja los grupos más polares expuestos al exterior acuoso y la intensidad de las correlaciones entre los protones H-3, H-5 de la β -CD y H- α , H- β , H- γ del anillo de Ad del profármaco **13a** indica una inserción profunda de dicho fragmento hidrofóbico, en conjunto, dichas correlaciones encontradas corroboran la formación del CI β -CD/profármaco **13a** y conforman la participación del anillo de Ad como único huésped en la cavidad de la β -CD y estableciendo una disposición geométrica estable y estéricamente favorecida.

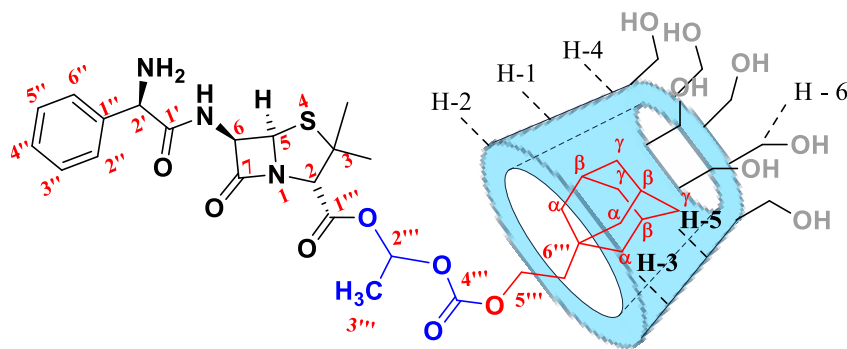


Figura 30. Numeración de los protones presentes en el CI **14a**.

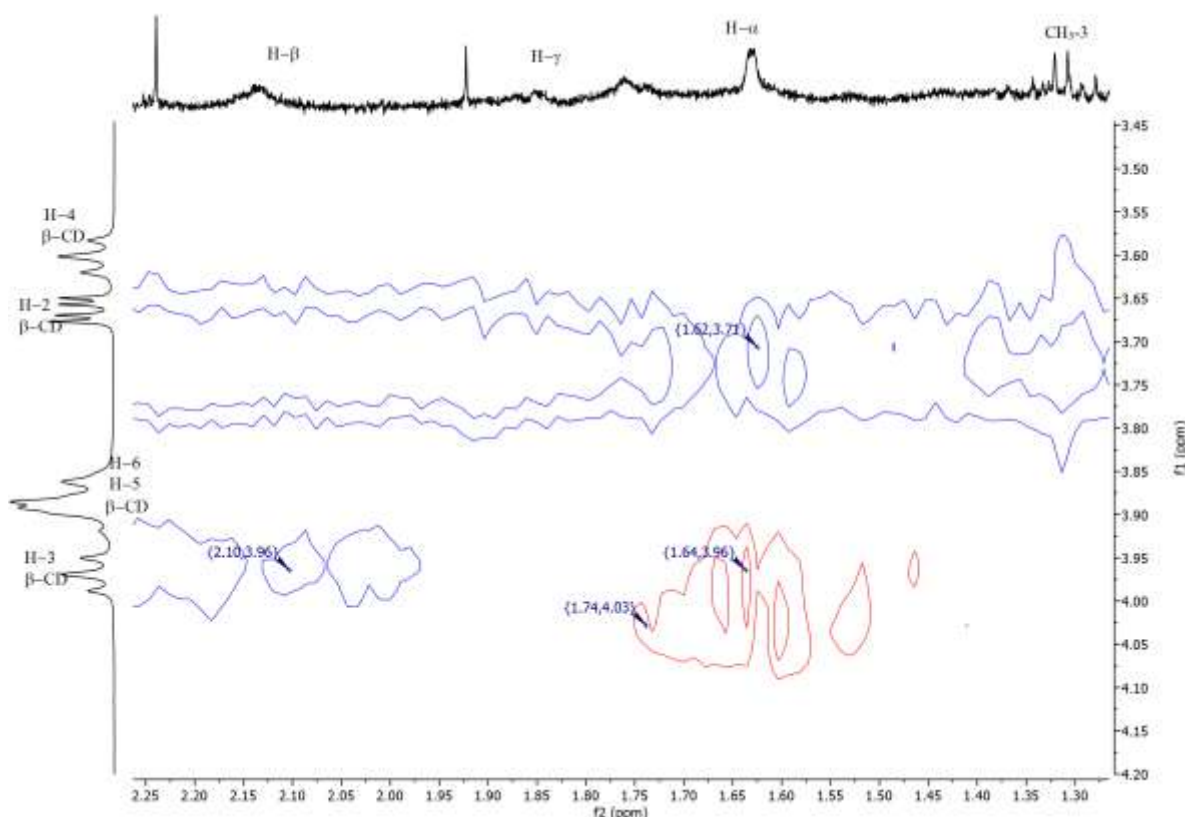


Figura 31. RMN 2D NOESY (500 MHz, D₂O) del CI **14a**.

Así mismo, en el espectro 2D NOESY del CI **14b**, se observan patrones de correlación consistentes con la formación del ensamble β-CD/profármaco **13b**. Así, en la **Figura 33** se observan señales de correlación H-H bien definidas, en particular las correlaciones observadas entre 2.13-3.95 ppm que corresponden a la interacción espacial de los protones de las posiciones H-5 de la cavidad interna de la β-CD correlacionando con los protones H-β del anillo de Ad, mientras que, la señal de correlación 1.76-3.95 ppm corresponde a la interacción espacial de los protones H-3 de cavidad interna de la β-CD y los protones H-γ del anillo de Ad y la señal de correlación en 1.63-3.96 ppm corresponden a la interacción espacial entre los protones H-α del anillo de Ad con los protones H-5 de la cavidad de la β-CD, dichas correlaciones indican la proximidad espacial menor a 5 Å entre los protones del anillo de Ad y los protones H-3 y H-5 de la cavidad de la β-CD, adicionalmente y en concordancia con el CI **14a**, se conserva la inserción profunda del fragmento de anillo de Ad de carácter hidrofóbico del profármaco **13b** en la cavidad interna de la β-CD. Por otra parte, la señal de correlación en 1.9-3.65 ppm, correspondiente a la correlación espacial de los protones H-6''' de la cadena alifática del residuo de Ad con los protones H-2 de la superficie externa de la β-CD y finalmente se observa la correlación 1.63, 3.65 del metilo (CH₃) de la posición H-3''' correlacionando espacialmente con los protones H-4 de la β-CD esto sugiere un arreglo conformacional del CI **14b** de manera que no solo el anillo de Ad interactúa con la β-CD, sino también los sustituyentes alifáticos adyacentes. De esta manera se demuestra la

formación del CI **14b** dadas las correlaciones espaciales H-H del espectro de efecto Overhauser (NOESY).

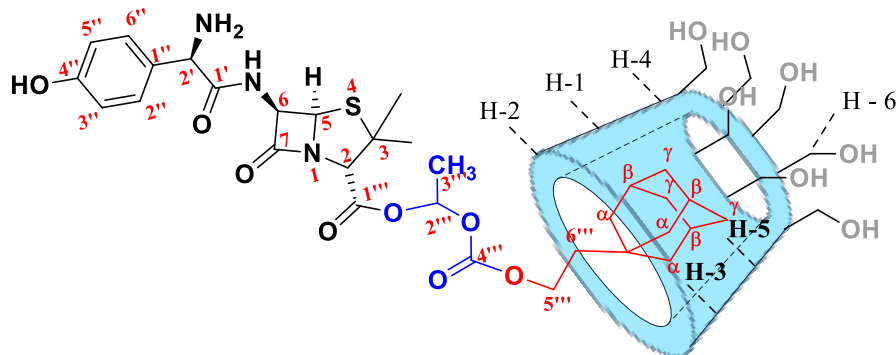


Figura 32. Numeración de los protones presentes en el CI **14b**.

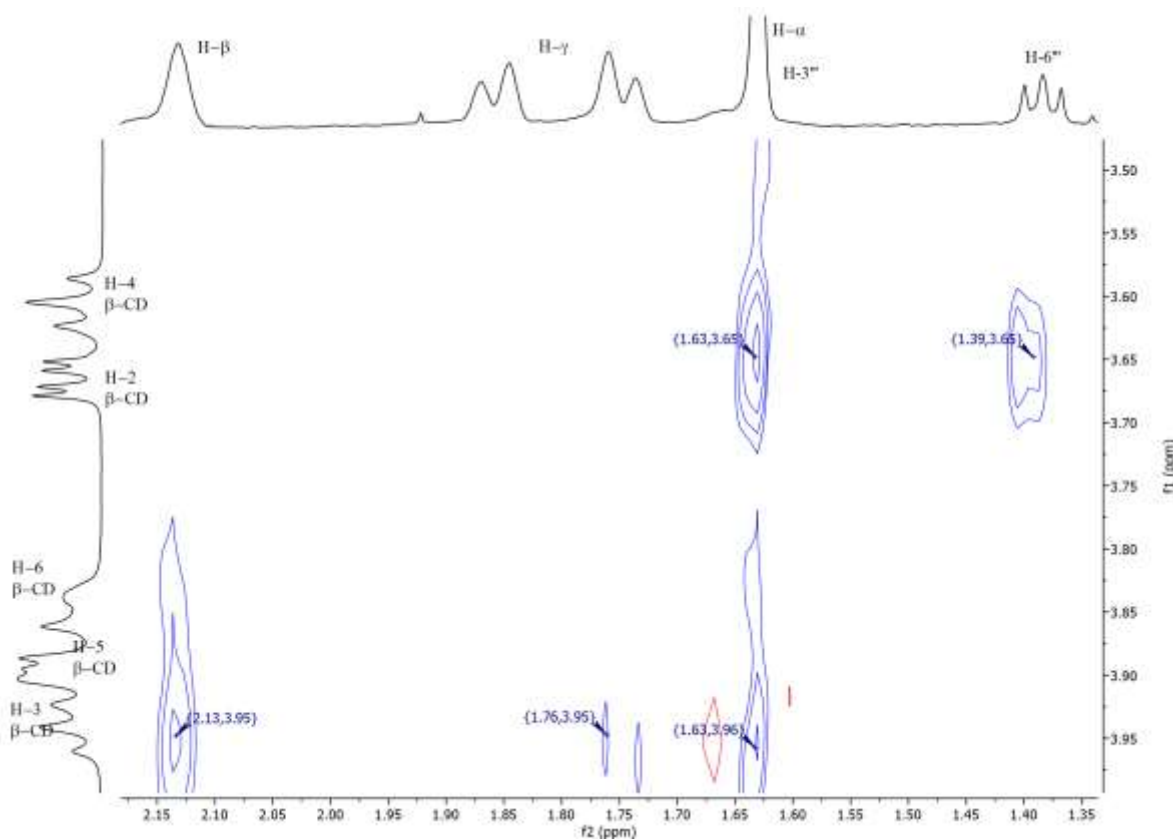


Figura 33. RMN 2D NOESY (500 MHz, D₂O) del CI **14b**.

Finalmente, para el CI **14c** en el espectro bidimensional NOESY se observa la señal de correlación entre 1.55-3.70 ppm, correspondiente a la interacción espacial de los protones H- α del anillo de Ad con los protones H-5 de la cavidad de la β -CD, mientras que en la señal de correlación 1.33-3.69 ppm confirma la interacción entre los protones H- γ del anillo de Ad con los protones H-5 de la cavidad interna de la β -CD, lo que demuestra la formación de CI

14c dada la inserción del anillo de Ad del profármaco **13c** con la cavidad de la β -CD mostrada por las correlaciones NOE. Por otra parte, el espectro NOESY del CI **14c** muestra picos de correlación en 1.35, 3.40 ppm que corresponde al metilo de la posición H-3''' proveniente del profármaco **13c** interactuando con los protones H-4 de la β -CD, además de encontrarse la señal de correlación de los metilos del anillo de la penicilina CH₃-3 interactuando con los hidrógenos H-2 de la β -CD, lo que sugiere un arreglo conformacional de tal manera que no solo el anillo de Ad interactúa con la cavidad de la β -CD como en el caso del CI **18b**, sino que también los sustituyentes alifáticos adyacentes del profármaco **13c** interactúan con la β -CD (**Figura 35**).

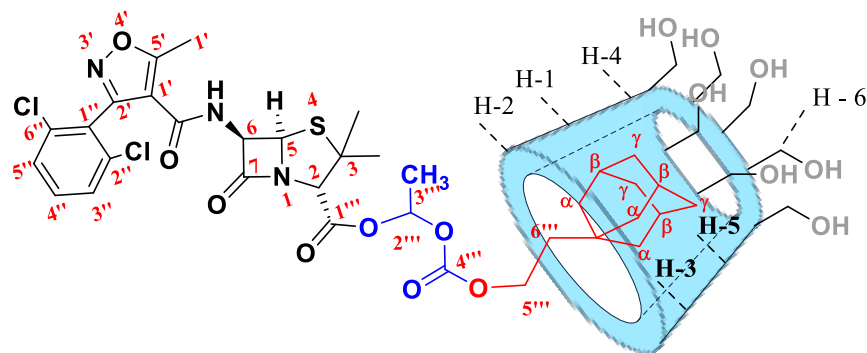


Figura 34. Numeración de los protones presentes en el CI **14c**.

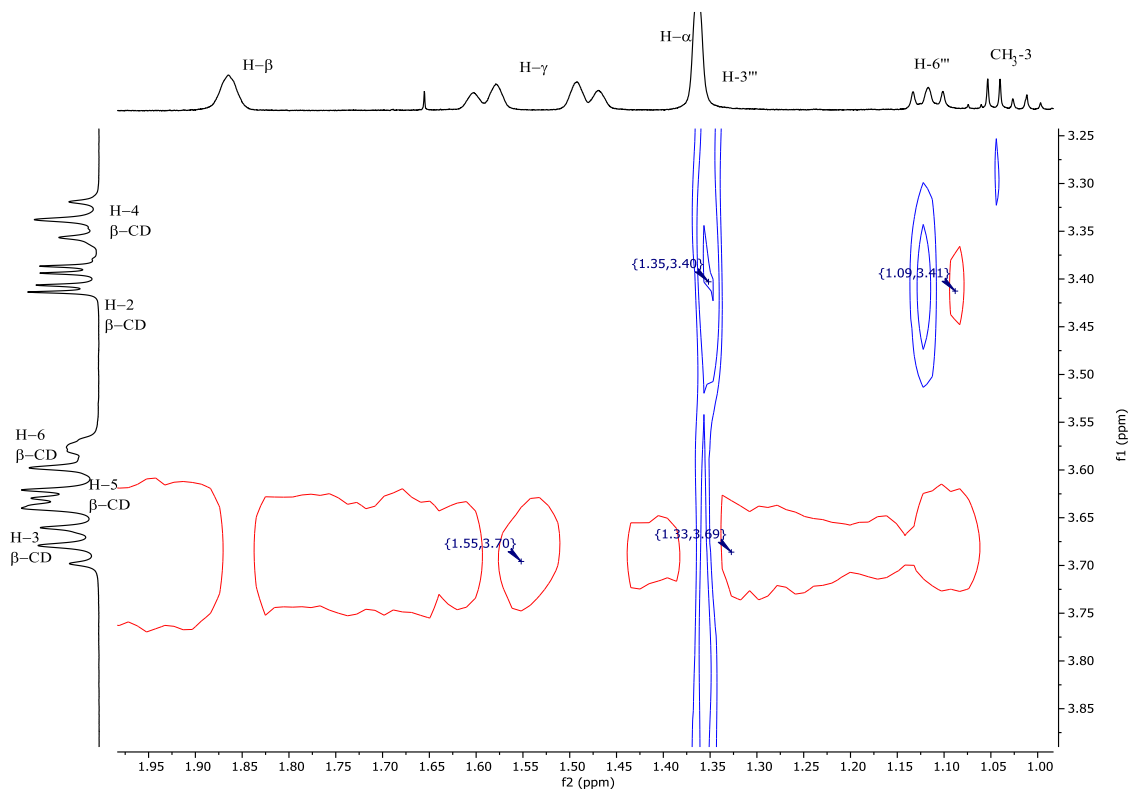


Figura 35. RMN 2D NOESY (500 MHz, D₂O) del CI **14c**.

De esta manera se demuestra la formación de los CI **14a-c**, en donde los arreglos conformacionales de estos CI permiten que el enlace ester-carbonato de los profármacos **13a-c** se encuentre espacial y conformacionalmente disponibles para poder ser hidrolizados además de una inserción total del anillo de Ad de los profármacos en la cavidad de la β -CD dadas las correlaciones H/H del espectro bidimensional de RMN NOESY.

6.3 Análisis DSC/TGA de los complejos de inclusión **14a-c**

El análisis por Calorimetría Diferencial de Barrido (DSC) permite caracterizar las propiedades térmicas y, en este estudio, evaluar la estabilidad e interacciones supramoleculares entre los profármacos **13a-c** y la β -CD. La comparación entre el profármaco puro, la β -CD, su mezcla física (MF) y el complejo de inclusión (CI) proporciona evidencia clave para confirmar la formación del ensamblaje supramolecular y comprender los cambios termodinámicos asociados. El perfil térmico del profármaco **13a** (línea negra, **Figura 36A**,) muestra una señal endotérmica entre 50-75 °C atribuida a la pérdida de humedad, seguida de un evento endotérmico a 190 °C correspondiente al punto de fusión. Posteriormente, se observan múltiples transiciones indicativas de degradación térmica. Estos resultados guardan consistencia con la curva TGA (línea negra, **Figura 36B**), donde se registra una pérdida de masa inicial del 5–8% (50-75 °C) por desorción de agua, y una pérdida significativa del 70% entre 200–350 °C, asociada a la degradación de la muestra con intermediarios inestables. Por su parte, el termograma DSC de la β -CD (línea roja, **Figura 36A**) exhibe una transición endotérmica entre 100–120 °C, debida a la liberación de agua de hidratación alojada en su cavidad. En el análisis TGA (**Figura 36B**, línea roja), esto se traduce en una pérdida de masa del 10–12% (50-100 °C); después no se observa ningún cambio de masa hasta los 310 °C, donde inicia la degradación y carbonización progresiva (pérdida del 80%). En la mezcla física (MF) (línea azul, **Figura 36B**), el comportamiento térmico conserva las transiciones de los componentes individuales. El ligero desplazamiento de la señal de pérdida de agua de la β -CD (70-100 °C) se atribuye a interacciones superficiales, mientras que la persistencia del punto de fusión del profármaco a 210 °C confirma la coexistencia de ambas fases sin formación de una estructura supramolecular. El TGA de la MF refuerza esta observación, mostrando pérdidas de masa independientes que coinciden con los perfiles del profármaco y la β -CD. Finalmente, el CI **14a** (línea verde, **Figura 36A**) presenta cambios significativos que confirman el encapsulamiento. La señal endotérmica entre 50–70 °C corresponde únicamente a humedad superficial, siendo este un indicador crítico de la formación del CI. La ausencia de la transición del punto de fusión del profármaco **13a** sugiere su inclusión dentro de la cavidad de la β -CD, lo que restringe su movilidad molecular. En el TGA, el CI muestra una pérdida de agua inicial menor (~7–20%), ya que el profármaco ha desplazado las moléculas de agua del interior de la β -CD. La estabilidad térmica del CI se mantiene hasta los 230 °C, descomponiéndose a temperaturas superiores que los componentes libres. Este incremento en la estabilidad térmica confirma la creación de una nueva entidad química estabilizada por interacciones supramoleculares.

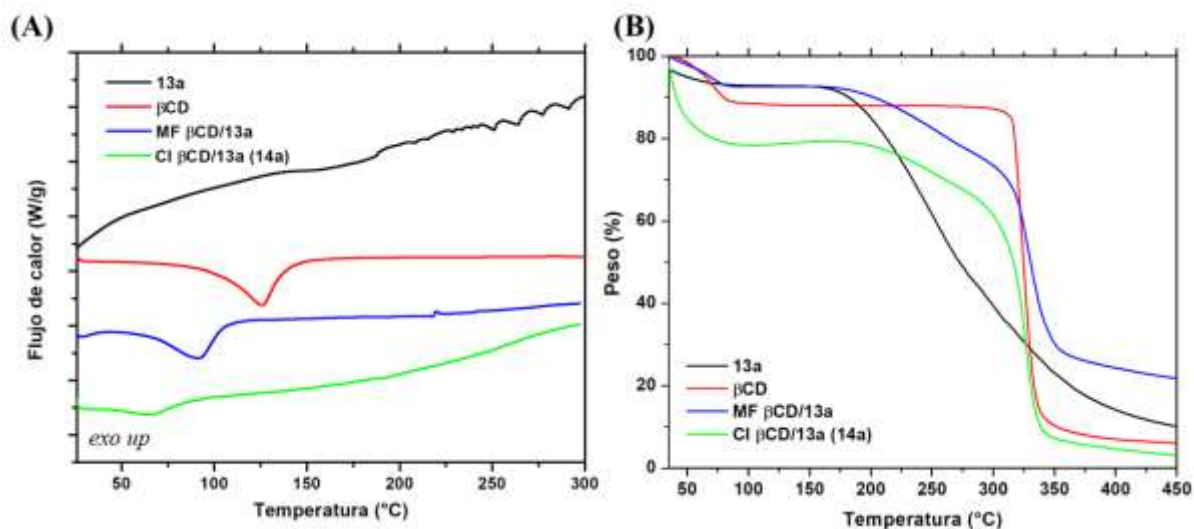


Figura 36. DSC/TGA del CI 14a.

La curva DSC del profármaco **13b** (línea negra, **Figura 37A**) no presenta transiciones térmicas hasta los 220 °C, temperatura en la que aparece un proceso endotérmico asociado a su punto de fusión. Posteriormente, se observan múltiples transiciones que sugieren el inicio de la descomposición del sólido. Este comportamiento es consistente con el análisis TGA (línea negra, **Figura 37B**), donde la muestra no presenta una pérdida de masa significativa ($\leq 2\%$) entre 50 y 180 °C, pero pierde un 60 % a partir de los 200 °C. Esta pérdida masiva confirma la descomposición térmica y valida la identificación del punto de fusión en el DSC, ya que los picos endotérmicos múltiples coinciden con la formación de intermediarios inestables. Por otro lado, las curvas de la β -CD (línea roja, **Figuras 37A y B**) muestran los perfiles térmicos habituales ya descritos. En cuanto a la mezcla física (MF) (línea azul, **Figuras 37A**), el DSC conserva los eventos térmicos de sus componentes: a 90 °C presenta la deshidratación de la β -CD y a 220 °C muestra el punto de fusión del profármaco **13b**. Esto evidencia la coexistencia de ambos componentes sin integración molecular del huésped en la cavidad de la β -CD. El TGA de la MF confirma lo anterior, registrando una pérdida de masa del 10 % (50-90 °C) por la liberación de agua de la β -CD, estabilidad entre 100-180 °C (propia del profármaco **13b**) y una degradación del 70 % entre 190 y 350 °C, coherente con la suma de sus componentes. Finalmente, el complejo de inclusión (CI) **14b** (línea verde, **Figura 37A**) muestra en el DSC una transición endotérmica a 70 °C asociada a la pérdida de agua. Este desplazamiento indica que parte del agua intracavitaria fue reemplazada por el huésped, evidencia clásica de la formación del CI. Además, se observa el punto de fusión del complejo a 190 °C, lo que podría indicar que el profármaco no está completamente incluido. En el TGA, el CI **14b** pierde solo un 3 % de masa entre 70 y 120 °C; esta reducción frente al 10 % de la β -CD nativa confirma el desplazamiento del agua por el fenómeno de inclusión. Asimismo, la temperatura de inicio de degradación del sistema se desplaza hacia valores menores, indicando que la inclusión estabiliza térmicamente al profármaco hasta los 190 °C, rango adecuado para aplicaciones biológicas.

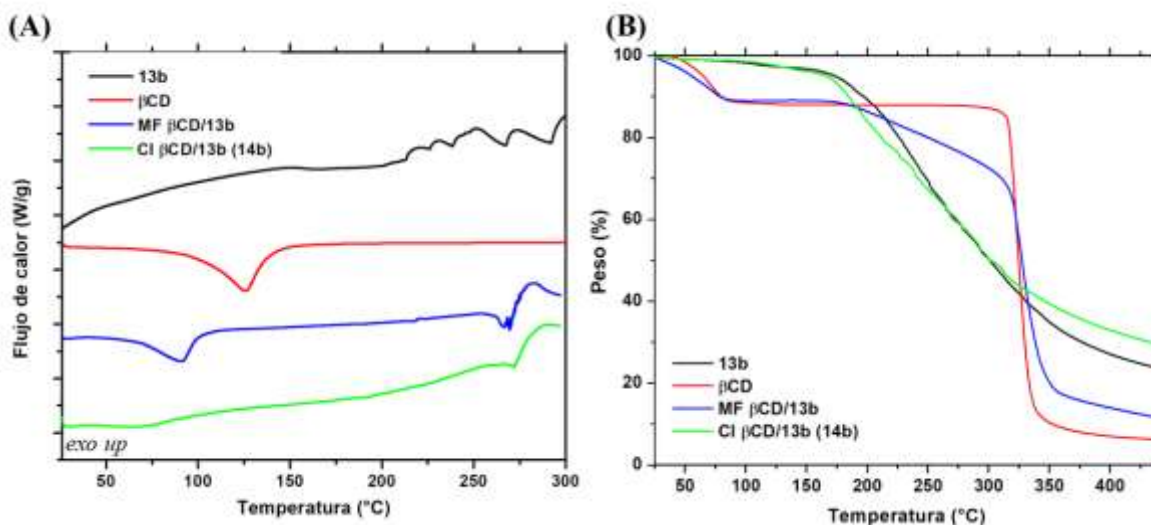


Figura 37. DSC/TGA del CI 14b.

Finalmente, la curva DSC del profármaco **13c** (línea negra, **Figura 38A**) muestra dos eventos endotérmicos: el primero entre 90-110 °C, debido a la pérdida de humedad, y el segundo entre 190-210 °C, correspondiente a su punto de fusión. Al contrastar estas transiciones con la curva TGA (línea negra, **Figura 38B**), se observa que el compuesto pierde un 5 % de masa entre 50-190 °C, confirmando la deshidratación. Posteriormente, entre 190-300 °C, ocurre una pérdida del 40 %, lo que ratifica que el profármaco **13c** funde con descomposición simultánea a partir de los 190 °C. Para la β -CD (línea roja, **Figuras 38A y 38B**), se mantienen las transiciones térmicas descritas previamente en esta sección. Por su parte, la curva DSC de la mezcla física (MF) (línea azul, **Figura 38A**) exhibe un pico endotérmico a 80 °C por la deshidratación de la ciclodextrina; este ligero desplazamiento a menor temperatura sugiere perturbaciones en la organización cristalina de la β -CD por el simple contacto físico con el profármaco. Además, a 210 °C persiste la señal del punto de fusión del profármaco **13c**. En la curva TGA de la MF (línea azul, **Figura 38B**), se conservan los porcentajes de pérdida de masa de los componentes individuales: un 40 % entre 190-270 °C (asociado al profármaco) y un 10 % adicional correspondiente a la β -CD. Esta conservación del comportamiento térmico individual demuestra la ausencia de interacciones para la formación de un CI en la MF. En contraste, la curva DSC del CI 14c (línea verde, **Figura 38A**) muestra un evento endotérmico entre 50-80 °C menos intenso que el de la β -CD nativa, lo que indica la expulsión de agua de la cavidad tras la inclusión del huésped y una mayor estabilidad estructural del sistema anfitrión/huésped. Asimismo, se observa un segundo evento a 180 °C atribuible al punto de fusión del CI **14c**, confirmando que el profármaco **13c** se aloja totalmente en la cavidad. La curva TGA del CI **14c** (línea verde, **Figura 38B**) muestra una pérdida inicial del 5 % (humedad) y estabilidad térmica hasta los 200 °C. A esta temperatura inicia una pérdida de masa del 70 % que concluye a 345 °C, interpretada como una descomposición con intermediarios inestables. En conjunto, los perfiles de DSC y TGA confirman la formación del complejo de inclusión (**Figura 38**).

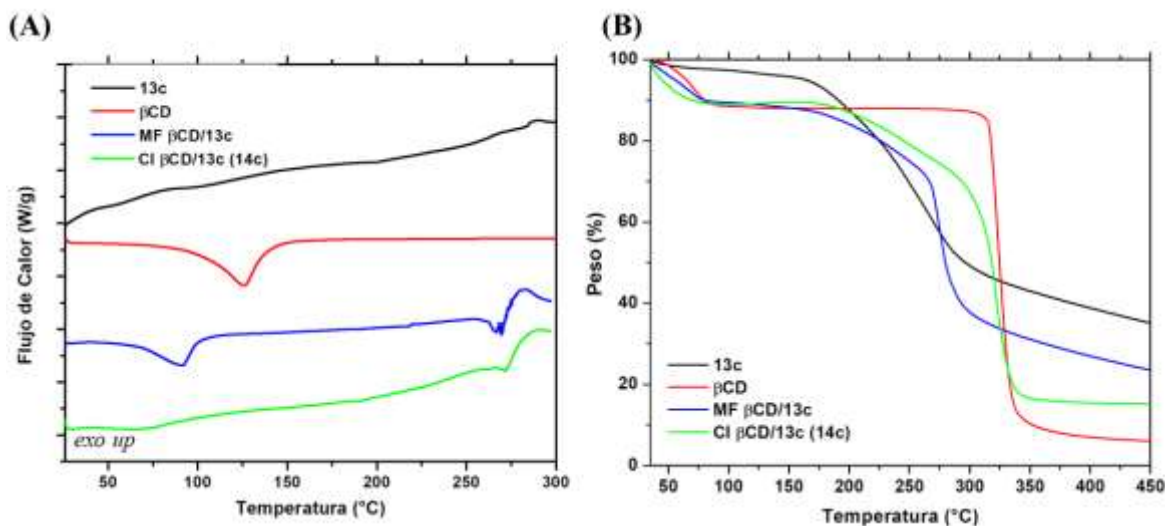


Figura 38. DSC/TGA del CI 14c.

6.4 Análisis del tamaño de partícula por DLS de los complejos de inclusión 14a-c

La determinación del tamaño de partícula a través de la técnica de dispersión dinámica de luz por sus siglas en inglés DLS (*Dynamic Light Scattering*) de los CI **14a-c**, muestra el diámetro hidrodinámico y la homogeneidad coloidal de estos CIs, para ello, los CIs **14a-c** se llevaron a una concentración de 540 μM en agua desionizada y se realizaron mediciones de 3 corridas de 13 repeticiones cada una. En este sentido, el CI **14a** presentó un diámetro hidrodinámico promedio (*Z-average*) de 145.3 nm, con un índice de polidispersidad (PDI) de 0.363, lo que sugiere la formación de agregados supramoleculares de tamaño nanométrico con una distribución relativamente amplia, indicativa de cierta heterogeneidad en la población de las nanopartículas. En contraste, el CI **14b** mostró un *Z-average* de 150.9 nm y un PDI significativamente menor (0.209), lo cual refleja una población coloidal más homogénea y mejor definida, sugiriendo una interacción anfitrión-huésped más eficiente y una organización supramolecular más estable en solución acuosa. Finalmente, el CI **14c** exhibió un menor diámetro hidrodinámico promedio de 135.5 nm con un PDI de 0.249, lo que indica la formación de agregados nanométricos relativamente uniformes, aunque con una dispersión ligeramente mayor que la observada para el CI **14b** (Figura 39).

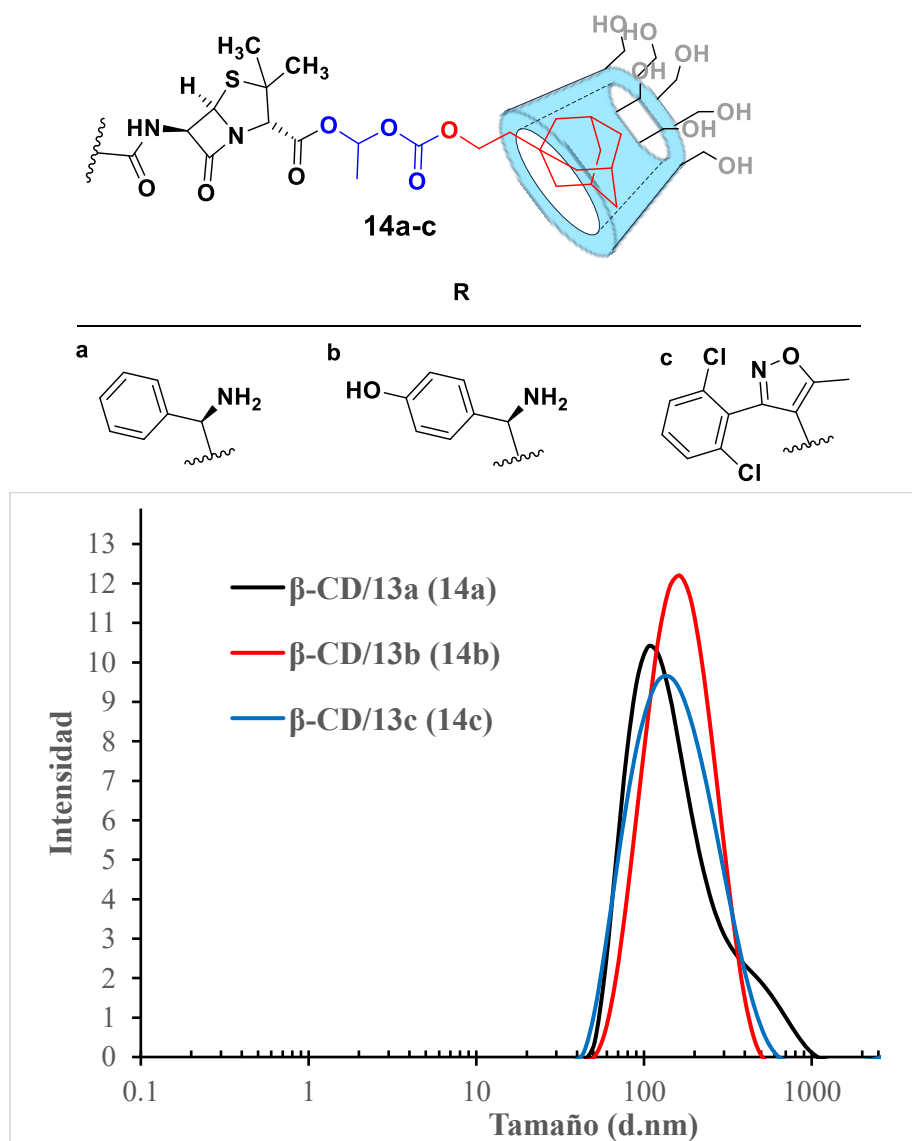


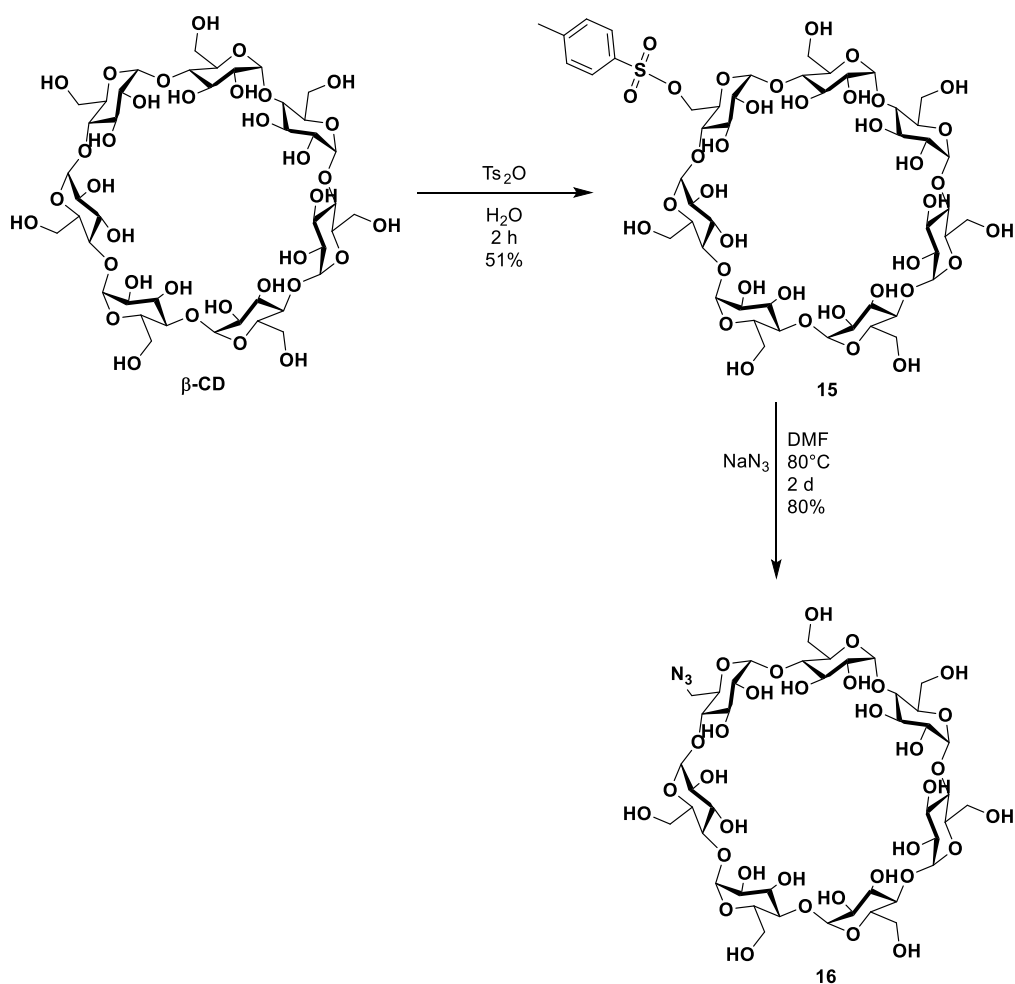
Figura 39. Resultados de la determinación del tamaño de partícula por DLS de los CIs **14a-c**.

En conjunto, los valores de *Z-average* confirman que los tres sistemas forman nanoensamblados supramoleculares en el rango submicrométrico, mientras que las diferencias en los índices de polidispersidad reflejan la influencia de la incorporación del anillo de adamantano en la estructura de los profármacos **13a-c** en el autoensamblaje supramolecular, estabilidad coloidal y uniformidad del CI con la β -CD, modificando las propiedades fisicoquímicas de los profármacos **13a-c**, aspecto relevante para su potencial aplicación farmacéutica en términos de solubilidad, estabilidad y comportamiento en sistemas biológicos.

**CAPÍTULO VII. SÍNTESIS DEL DENDRÍMERO PAMAM-tetra- β -CD Y SU
AUTOENSAMBLAJE SUPRAMOLECULAR CON LOS PROFÁRMACOS 13a-c
COMO SISTEMAS DE LIBERACIÓN DE PROFÁRMACOS β -LACTÁMICOS**

7.1 Síntesis de los intermediarios mono-tosil- β -CD (15), mono-azido- β -CD (16) y PAMAM-tetra-alquino terminal (18)

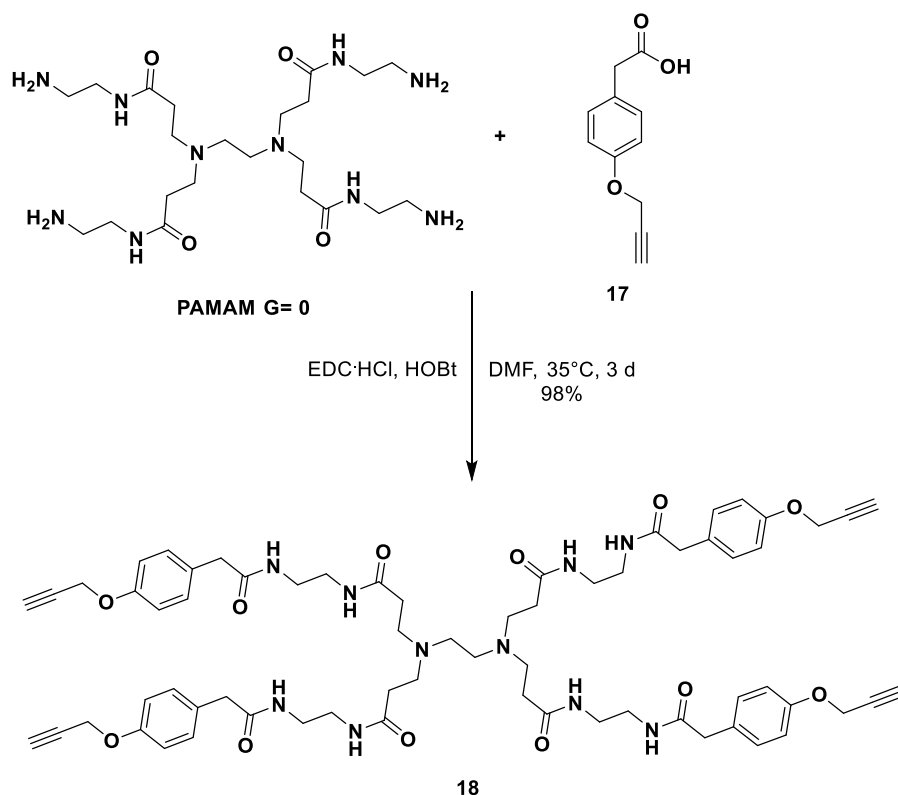
Se modificó de manera quimioselectiva uno de los hidroxilos primarios de la β -CD utilizando anhídrido de *p*-toluensulfonilo (Ts_2O) en H_2O durante 2 horas para generar la mono-tosil- β -CD, la cual se obtuvo con un rendimiento químico del 51 % después de su purificación, posteriormente se utilizó una reacción de tipo $\text{S}_\text{N}2$ utilizando a la NaN_3 como nucleófilo en DMF anhidra a 80°C durante 2 días, para obtener la mono-azido- β -CD **16** con un rendimiento químico del 80% (**Esquema 12**), molécula indispensable para la reacción de cicloadición 1,3 dipolar catalizada por Cu(I).



Esquema 12. Síntesis de la mono-azido- β -CD **16**.

Por otra parte, para la obtención de la fuente de alquino necesaria para llevar a cabo la reacción *click*, se procedió con la funcionalización del dendrímero PAMAM G0 comercialmente disponible a través de una reacción de acoplamiento con el ácido 4-propargiloxifenilacético **17** empleando una combinación de clorhidrato de 1-etil-3-(3-dimetilaminopropil) carbodiimina ($\text{EDC}\cdot\text{HCl}$) y 1-hidroxibenzotriazol (HOBt) en DMF a

35°C durante 3 días para así obtener el PAMAM-tetra-alquino terminal **18** con un rendimiento químico del 98%, en esta transformación química ocurre una conversión eficiente de los 4 grupos amino terminales del PAMAM G0 en las correspondientes amidas en el PAMAM-tetra-alquino terminal **18**, el mecanismo de los agentes acoplantes implica la activación del grupo ácido carboxílico del ácido 4-propargiloxifenilacético **17** mediante el uso de EDC·HCl y HOBt, como resultado en esta transformación química se obtuvo exitosamente el PAMAM-tetra-alquino terminal **18** (**Esquema 13**).

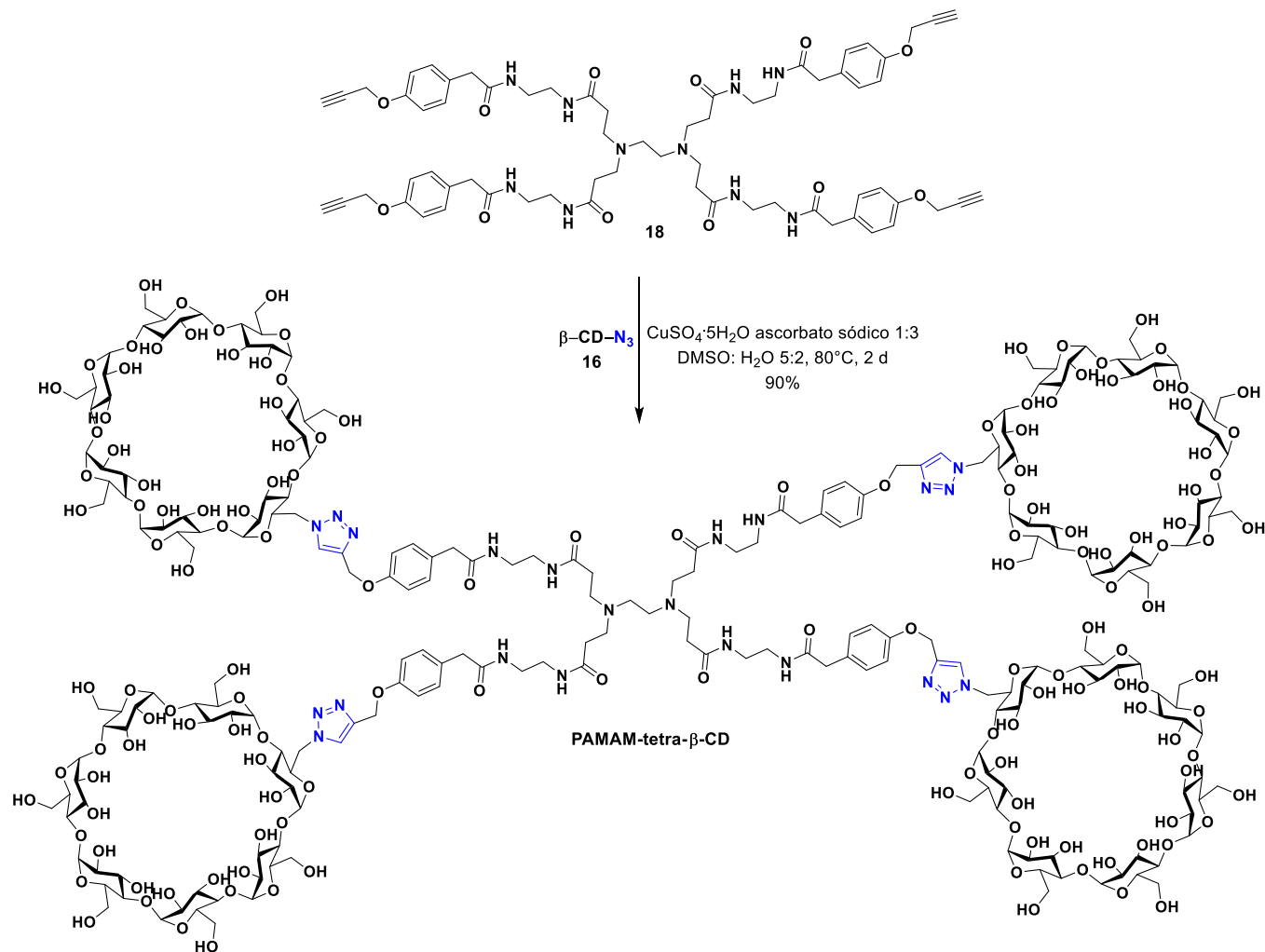


Esquema 13. Acoplamiento entre el PAMAM G 0 y el ácido de 4-propargiloxifenilacético **17**.

7.2 Síntesis del dendrímero PAMAM-tetra-β-CD vía química *Click*

Se realizó la conjugación de los componentes clave para efectuar la reacción de *click* de cicloadición 1,3 dipolar azida-alquino catalizada por Cu(I), recordando que esta reacción química permite obtener una excepcional eficiencia y selectividad, lo cual la hace ideal para la funcionalización de macromoléculas complejas y químicamente sensibles, de esta manera se hizo reaccionar el PAMAM-tetra-alquino terminal (**18**) con la mono-azida-β-CD (**16**) en una mezcla de CuSO₄·5H₂O: ascorbato sódico en proporción 1:3 empleando una mezcla de DMSO: H₂O en una proporción 5:2 a 80°C durante 3 días, de esta manera se obtuvo satisfactoriamente al dendrímero PAMAM-tetra-β-CD con un rendimiento químico de 90%

vía una síntesis divergente, decorado con 4 unidades periféricas de β -CD como unidades moduladora de biocompatibilidad, solubilidad y capacidad de carga, demostrando la versatilidad, eficiencia y sencillez para efectuar reacciones químicas bajo esta filosofía y estrategia sintética (**Esquema 14**).



Esquema 14. Síntesis del dendrímero PAMAM decorado con 4 unidades periféricas de β -CD vía una reacción de cicloadición 1,3 dipolar catalizada por Cu(I).

7.3 Caracterización de los intermediarios mono-tosil- β -CD (**15**) y mono-azido- β -CD (**16**) por RMN de ^1H

El espectro de RMN de ^1H en $\text{DMSO-}d_6$ de la mono-tosil- β -CD **15** mono-funcionalizada con un grupo *p*-toluensulfonilo en la posición C-6, lo cual introduce cambios estereoelectrónicos en el espectro de RMN de la β -CD nativa, debido al rompimiento de la simetría, pues en la región aromática (7.8–7.4 ppm), se distinguen claramente dos señales dobles característicos de los protones de un fenilo *p*-sustituido y que corresponden a los protones del anillo aromático del grupo tosilo, este patrón (AA'BB') que confirma la incorporación del fragmento *p*-toluenosulfonilo en la β -CD. La integración de estas señales, en relación con el resto del espectro, es consistente con una monosustitución de la β -CD, es decir, solo se incorporó un grupo tosilo. En la región entre $\sim\delta$ 5.78-5.63 ppm, se observa un conjunto de señales que se asignaron a los protones H-1 de las unidades de glucopiranosas. Es importante mencionar que las señales múltiples observadas en este intervalo se explican porque en una β -CD no modificada, los protones H-1 suelen aparecer como una señal multiplete relativamente definida debido a la equivalencia de las unidades monoméricas; sin embargo, en el espectro obtenido, la monosustitución rompe dicha simetría, generando que uno de los protones tenga un ambiente químico diferente y que fue asignado como H-1'. Este cambio en el ambiente químico provoca que el protón H-1' se encuentre con mayor desplazamiento químico. Las señales en el intervalo 4.5–3.2 ppm corresponden al conjunto de protones de las unidades monoméricas de D-Glucosa (H-3, H-5, H-3', H-6', H-2, H-4, y H-6), de igual forma los protones de la unidad monomérica que soporta al grupo tosilo se encuentran con mayor desplazamiento químico y con integral bien definida que corresponde a un solo protón. Adicionalmente, se observa una señal singulete a 2.43 ppm que se asignó al grupo metilo del anillo aromático ($-\text{CH}_3$) del tosilo y que integra para tres protones lo que confirma la presencia de una única unidad funcionalizada. La señal etiquetada como acetona ($\sim\delta$ 2.1 ppm) corresponde a acetona residual del proceso de purificación, y no forma parte de la estructura química de la mono-tosil- β -CD **15**, ya que probablemente la acetona quede atrapada en la cavidad de la β -CD y resulta complejo removerla al 100% de la muestra. Como se mencionó anteriormente, un aspecto importante del espectro es la evidente pérdida de equivalencia química entre las unidades de D-glucosa de la β -CD, reflejada por el ensanchamiento y multiplicidad de las señales. Esto se explica por la reducción de simetría al introducir un grupo funcional, así como por efectos conformacionales inducidos por el sustituyente voluminoso y polarizable del tosilo que puede generar distorsiones locales y alterar la dinámica de rotación en el borde primario de la β -CD (**Figura 40**).

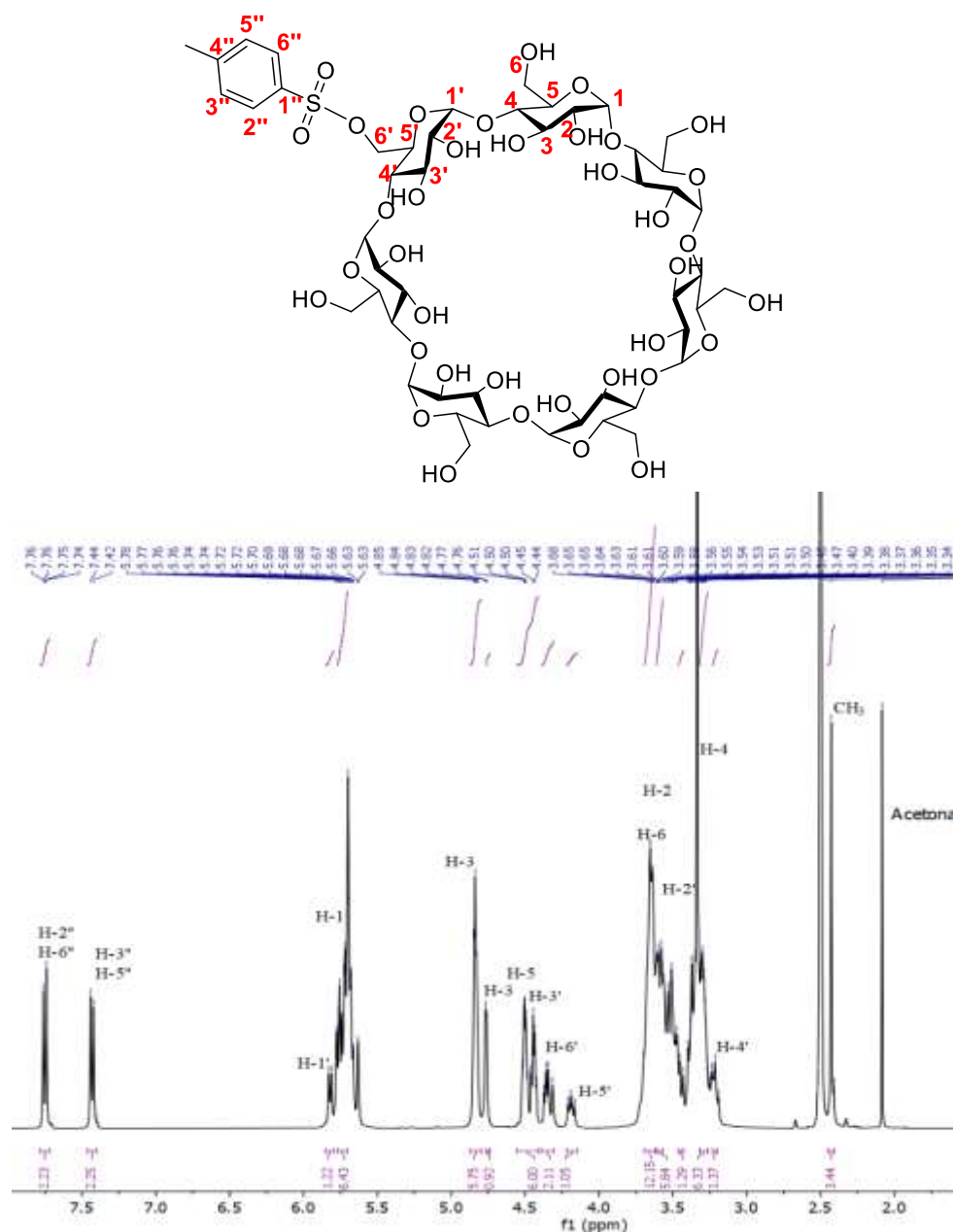
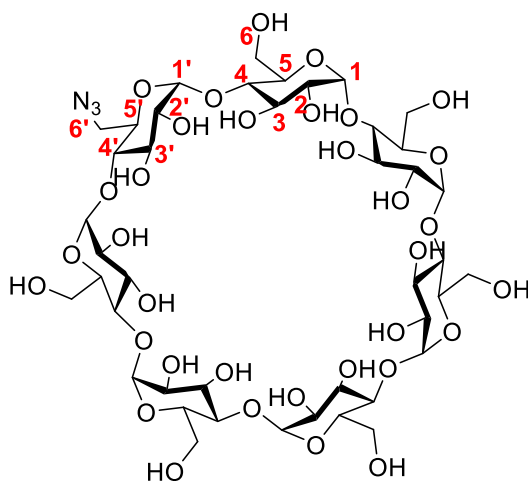


Figura 40. Espectro de ¹H de RMN (500 MHz, DMSO-*d*₆) de la mono-tosil-β-CD **15**.

Por otra parte, el espectro de RMN de ¹H de la mono-azido-β-CD (**16**) muestra las señales típicas del esqueleto de β-CD, y las señales de la mono-modificación asociada a la sustitución nucleofílica del grupo tosilo por el grupo azida en la posición C-6. A diferencia del precursor **15**, en este caso desaparecen completamente las señales aromáticas y el metilo del grupo tosilo, lo cual constituye la primera evidencia directa de la completa conversión química. En la región de los 5.5–4.8 ppm, se observa un conjunto de señales asignables a los protones H-1 de las siete unidades de glucopiranosas, se distingue uno solo de los protones correspondiente a la unidad monomérica que soporta al grupo funcional de la azida ya que dicha señal integra para un protón. Al igual que en el derivado tosilado **15**, la pérdida de

simetría permite diferenciar los protones de la mono-azida- β -CD **16** por encontrarse en diferentes ambientes químicos. Sin embargo, en este caso la distribución es ligeramente más compacta, lo cual sugiere que el grupo azida, al ser menos voluminoso y con menor anisotropía magnética que el tosilo, induce una perturbación estructural más moderada en la estructura de cono truncado de la β -CD. Por otra parte, en 4.87 ppm se observa al protón asignado como H-3' de la unidad de glucopiranososa modificada y en 4.82 ppm se encuentran los protones etiquetados como H-3 del resto de unidades sin modificar. Además, en la región entre 4.2–3.2 ppm se concentra la mayor parte de las señales correspondientes a los protones del esqueleto de glucopiranososa asignados como H-5' y H-5 (en 4.57 a 4.40 ppm respectivamente, mientras en que 3.80 a 3.53 ppm se encuentran los protones de H-6' y H-6 respectivamente. En 3.41 ppm se encuentra H-2' y 3.37 ppm se encuentra H-2. Finalmente, en 3.32-3.27 ppm se encuentran los protones H-4' y H-4 respectivamente (ver **Figura 41**), se observan señales múltiples solapadas, típicos del sistema de la β -CD, sin embargo, de igual forma, es posible asignar los protones de la unidad monomérica que soportan al grupo azida. En comparación con el espectro del derivado tosilado **15**, se observa una reducción en la dispersión global de las señales, lo que es consistente con una menor perturbación electrónica y estérica del sistema. Esto tiene implicaciones importantes; el grupo azida es un grupo lineal, relativamente pequeño y con baja anisotropía, lo que permite una mayor conservación de la dinámica conformacional de la β -CD. La señal intensa observada alrededor de $\sim$ 2.2–2.0 ppm corresponde a moléculas de acetona residual, como se indica en el espectro, y no está relacionada con la estructura del compuesto (**Figura 41**).



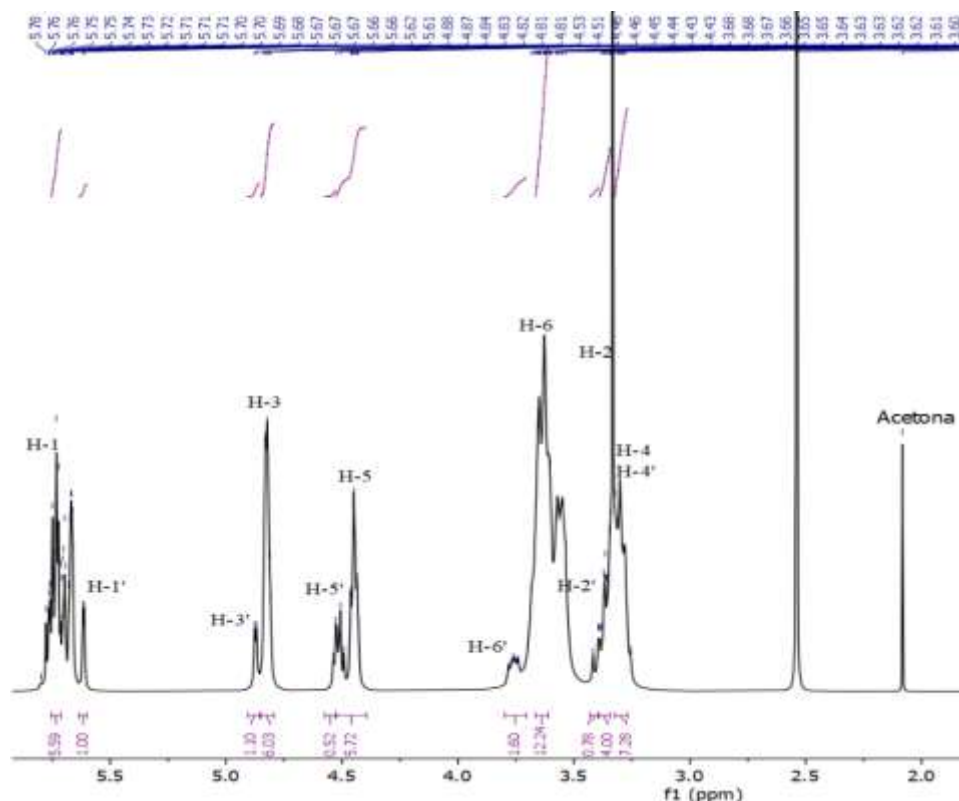


Figura 41. Espectro de ^1H de RMN (500 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) de la mono-azida- β -CD **16**.

Un punto crítico en la interpretación es la ausencia de señales en la región aromática ($\sim\delta$ 7–8 ppm), lo cual confirma la eliminación completa del grupo tosilo. Asimismo, la ausencia de nuevas señales adicionales fuera del rango típico de carbohidratos respalda que la transformación fue limpia y específica, sin formación significativa de subproductos.

Desde una perspectiva mecanística, este espectro es consistente con una sustitución nucleofílica tipo $\text{S}_{\text{N}}2$ en el carbono primario C-6, donde el grupo tosilo actúa como buen grupo saliente y es reemplazado por el grupo azida. La conservación del patrón general del espectro indica que no hubo reordenamientos ni degradación del anillo D-glucosa, y adicionalmente se confirma que se llevó a cabo de manera eficaz una mono-modificación selectiva en la estructura química de la β -CD.

7.4 Caracterización del dendrímero PAMAM-tetra- β -CD por RMN de ^1H

La caracterización por RMN de ^1H (500 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) del dendrímero PAMAM-tetra- β -CD muestra la correcta obtención del dendrímero, además, debido a la alta simetría en su estructura química y a la presencia de unidades repetidas del dendrímero permite que sean química y magnéticamente equivalentes cada dendrón que lo compone. En este sentido, en la región aromática se observa un singlete en 8.14 ppm que integra para 1 protón, lo que indica la formación del anillo de triazol proveniente de la reacción de cicloadición 1,3 dipolar catalizada por Cu(I) , a este protón se asignó como H-9' de acuerdo con la numeración del

dendrímtero PAMAM-tetra- β -CD (ver **Figura 42**). Por otra parte, entre 8.09-7.96 ppm se encuentra una señal múltiple que integra para 8 protones, los cuales corresponden a los -NH- de las amidas presentes en el dendrímtero PAMAM. Entre 7.17-6.94 ppm se observa un sistema AA'BB' con una $J = 8.2$ Hz, que es característica de un anillo *para*-disustituido con grupos funcionales distintos y que se asignaron como H-2', H-6' y H-3', H-5'. Estas señales dobles integran para 8 protones respectivamente y concuerdan sustitución esperada en el dendrímtero. Por otra parte, en 5.87 ppm se observa un singulete que integra para 8 protones y que corresponde a los protones H-7' vecinos al anillo de triazol. En 5.70 ppm aparece una señal múltiple que integra para 24 protones y que corresponde protones asignados como H-1''' de las unidades de glucopiranosas de β -CD, en este sentido, también se encuentran en 5.62 ppm los protones etiquetados como H-1'' que integran para 4 protones, como una señal múltiple. y que corresponden a los protones H-1 de las unidades de glucopiranosas monomodificadas de la β -CD. Por otra parte, en 4.88 ppm aparecen los protones H-3'' que integran para 4 protones como señales múltiples, entre 4.83 ppm y en 4.83 ppm encontramos a los protones etiquetados como H-3''' que corresponden al metilo del estercarbonato y que integran para 24 protones como una señal múltiple. Por otra parte, en 4.77 ppm encontramos a los protones asignados como H-5'' que integran para 4 protones como señales en 4.45 ppm como señales múltiples que integran para 24 protones se encuentran los protones asignados como H-5''' que corresponden a la cadena alquílica unida al carbonato. Por otra parte, entre 4.29 - 3.99 ppm se encuentran los protones diastereotópicos H-6'' adyacentes al anillo de triazol que integran para 8 protones como señales múltiples. Mientras que en 3.77 ppm se observan los protones asignados como H-2'' que integran para 4 protones como una señal multiplete y simultáneamente en 3.65 ppm encontramos a los protones etiquetados como H-6''' integrando para 48 como multiplete, en 3.63 ppm encontramos a los hidrógenos H-2''' como multiplete e integrando para 24. Por otra parte, en 3.55 ppm hay un traslape de los protones etiquetados como H-4'' y H-4''' ya que integra a 28 y posee una multiplicidad de multiplete. Por otra parte, en 3.42 ppm como multiplete e integral de 8 encontramos a los hidrógenos etiquetados como H-8, en 3.08 ppm con integral 16 y multiplicidad de multiplete encontramos a los hidrógenos etiquetados como H-6 y H-5. En 2.91 ppm como multiplete e integrando para 4, encontramos a los protones etiquetados como H-1 del núcleo de dendrímtero, mientras que en 2.43 ppm, integrando para 8 y como multiplete encontramos a los protones etiquetados como H-3 y finalmente en 2.21 ppm encontramos a los protones etiquetados como H-2 integrando para 2 y como multiplete. Cabe mencionar que los hidrógenos de las posiciones H-1'' a H-6'' provenientes de las unidades monoméricas de D-glucopiranosas se encuentran en un diferente ambiente químico dada su proximidad con el anillo de triazol, de ahí que sean diferenciables del resto de unidades monoméricas de D-glucopiranosas (**Figura 42**).

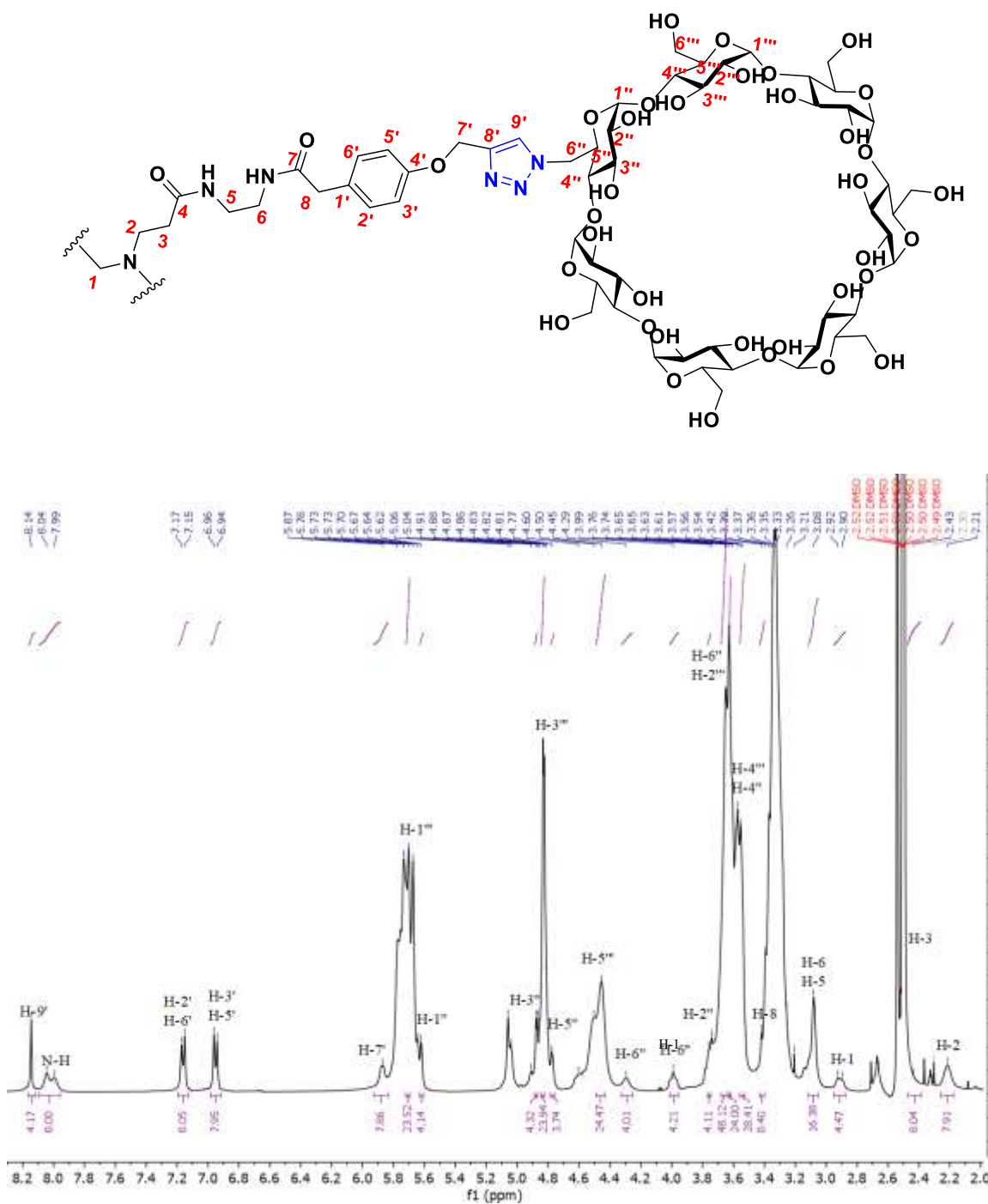
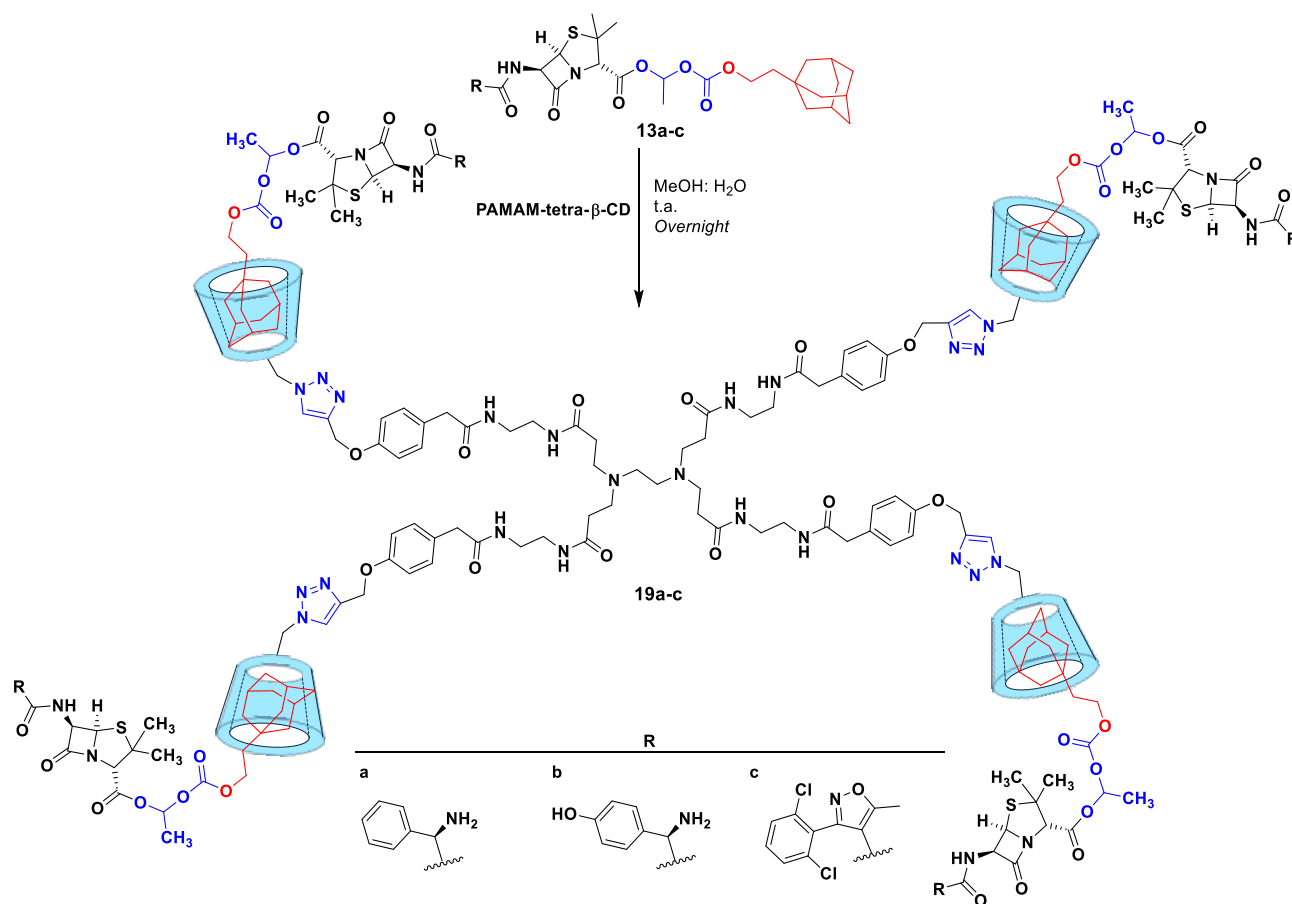


Figura 42. Espectro de RMN de ^1H (500 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) del dendrímero PAMAM-tetra- β -CD.

7.5 Formación de los complejos de inclusión entre el dendrímero PAMAM-tetra- β -CD/Profármacos 13a-c

El autoensamblaje de los profármacos β -lactámicos **13a-c** con el dendrímero PAMAM-tetra- β -CD puede entenderse a partir de las interacciones intermoleculares que se favorecen bajo condiciones de cosolvente. En este sentido, la adición de una cantidad limitada de MeOH (hasta 1 mL) a los profármacos en una proporción molar 1:4, no solo facilita su solubilización inicial, sino que modula el entorno del sistema, promoviendo la inclusión de los profármacos en las cavidades de β -CD, a través de la formación del complejo de inclusión.

Posteriormente, esta solución se incorpora a una fase acuosa que contiene el dendrímero PAMAM-tetra- β -CD, generando un sistema mixto donde el fenómeno de cosolvente desempeña un papel clave en la organización supramolecular. La agitación prolongada a temperatura ambiente permite alcanzar el equilibrio de ensamblaje, favoreciendo la formación de agregados estables. Finalmente, la liofilización del sistema conduce a la obtención de los ensamblados dendríticos **19a-c** en rendimientos cuantitativos (**Esquema 14**).



Esquema 14. Autoensamblaje de los profármacos **13a-c** con el PAMAM-tetra- β -CD para formar los CI **19a-c**.

7.6 Análisis de los CIs del dendrímero PAMAM-tetra- β -CD/profármacos **13a-c** por RMN 2D de efecto Overhauser

La caracterización de los ensamblados supramoleculares de los profármacos **13a-c** con el dendrímero PAMAM-tetra- β -CD se efectuó mediante la técnica bidimensional de RMN de efecto Overhauser (NOESY), dada la proximidad espacial de los protones del anillo de Ad pertenecientes en la estructura de los profármacos **13a-c** con los protones localizados dentro de la cavidad de la β -CD, lo que genera interacciones H/H, en el que 4 unidades de cada profármaco se encuentran ensamblados en las cavidades de las β -CDs periféricas del dendrímero, lo que proporciona evidencia concluyente de la formación de CIs estables y gobernados por interacciones anfitrión-huésped. Para el ensamblado supramolecular **19a**, la región correspondiente a los protones internos de la cavidad de la β -CD, se observan señales bien definidas asignadas a H-3 ($\delta \approx 3.95\text{--}4.05$ ppm) y H-5 ($\delta \approx 3.80\text{--}3.90$ ppm), las cuales resultan particularmente relevantes debido a su orientación hacia el interior de la cavidad hidrofóbica. De manera significativa, se detectan correlaciones H/H cruzadas intensas entre estos protones internos de la β -CD y las señales alifáticas del anillo de Ad del profármaco, localizadas en la región de $\delta \approx 1.45\text{--}1.75$ ppm, destacando los contactos espaciales observados alrededor de ($\delta_2/\delta_1 \approx 1.62/3.91$ ppm y $1.73/3.94$ ppm). El patrón global de correlaciones NOESY, caracterizado por múltiples contactos cruzados indican que las cuatro unidades de β -CD ancladas al dendrímero participan de manera cooperativa en el ensamblaje supramolecular con las cuatro unidades de profármacos β -lactámicos **13a** (**Figura 44**).

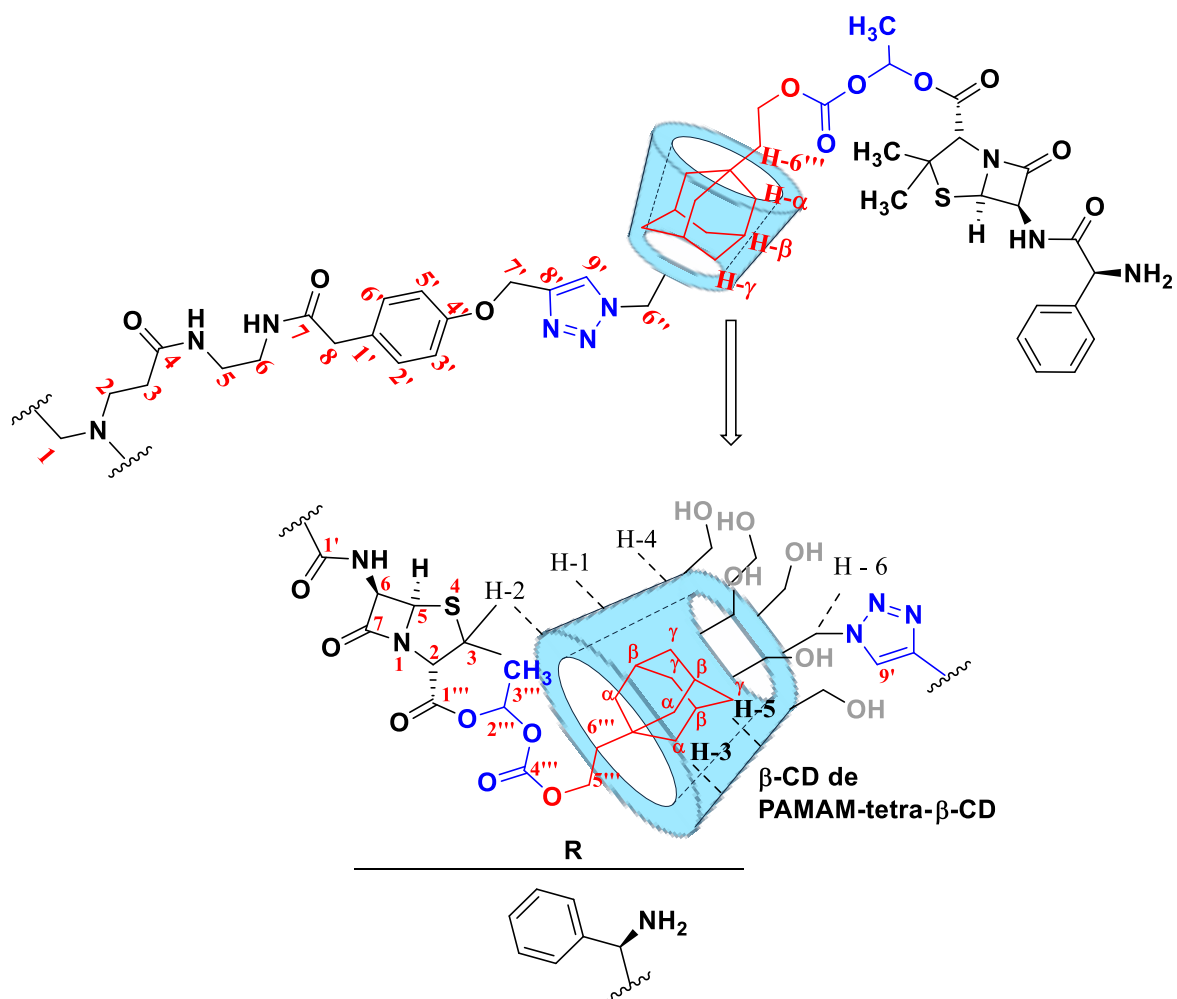


Figura 43. Asignación de los protones presentes en el CI 19a.

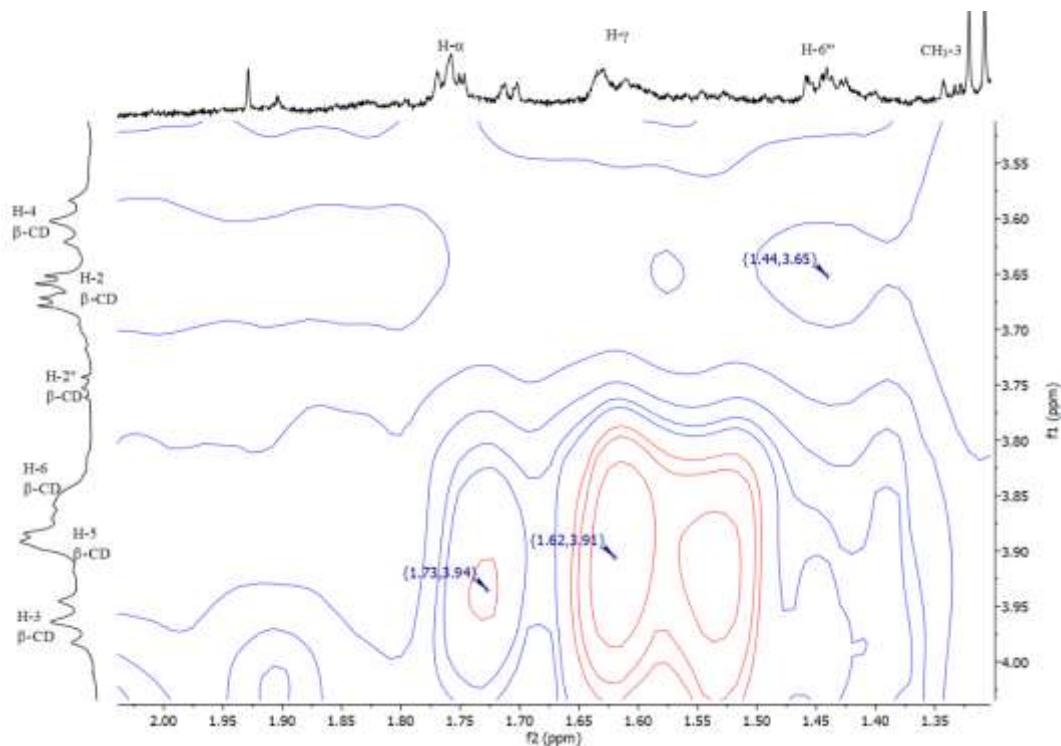


Figura 44. RMN 2D NOESY (500 MHz, D₂O) del ensamblado supramolecular **19a**.

En contraste, el espectro NOESY de RMN del ensamblado supramolecular **19b** de igual forma evidencia de manera inequívoca la formación de CIs anfitrión-huésped, en primera instancia, en la región de los protones internos de la cavidad de la β -CD se identifican claramente las señales correspondientes a H-3 y H-5 ($\delta \approx 3.85\text{--}4.00$ ppm), orientados hacia el interior hidrofóbico, las cuales presentan correlaciones espaciales H/H bien definidas con las señales alifáticas del núcleo Ad de las unidades de profármacos **13b**, localizadas entre $\delta \approx 1.40$ y 1.75 ppm. En particular, se observan contactos espaciales intensos en las coordenadas aproximadas ($\delta_2/\delta_1 \approx 1.64/3.91$ ppm y $1.75/3.92$ ppm), lo que confirma la proximidad espacial directa entre el anillo de Ad y la cavidad de la β -CD. De manera complementaria, se detecta una correlación H/H débil pero reproducible entre señales alrededor de $\delta \approx 2.15$ ppm correspondiente a los protones H- β del anillo de adamantano y los protones H-5 y H-3 de la β -CD ($\delta \approx 3.93$ ppm), lo que sugiere un ajuste conformacional dinámico del invitado dentro de la cavidad. Cabe destacar que no se observan correlaciones significativas entre los protones externos de la β -CD (H-2 y H-4) y las señales del Ad, descartando interacciones superficiales y confirmando un verdadero proceso de inclusión (**Figura 46**).

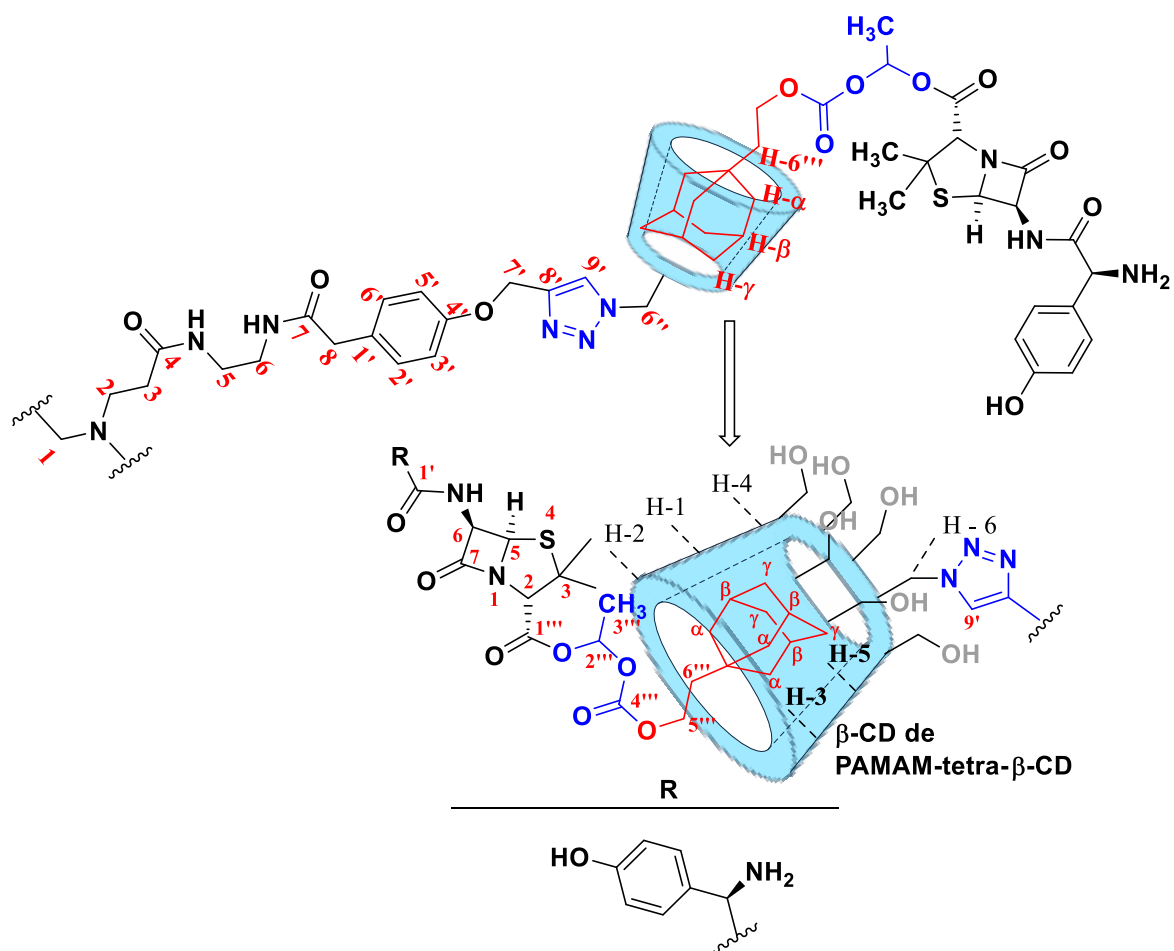


Figura 45. Asignación de los protones presentes en el CI 19b.

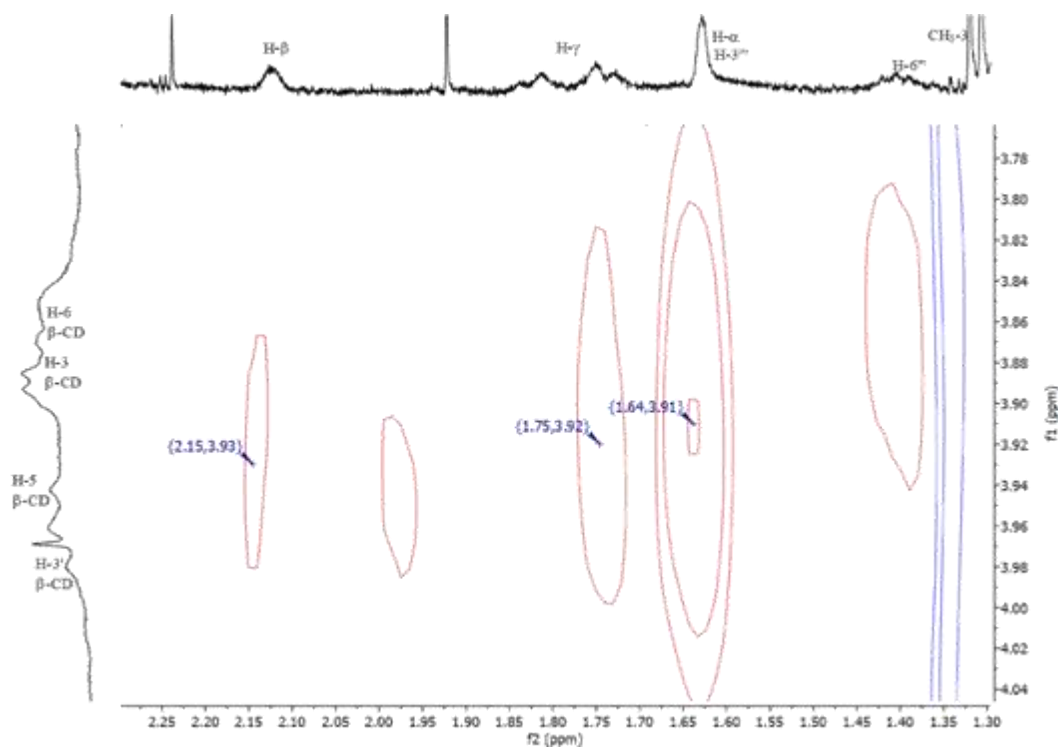


Figura 46. Espectro de RMN 2D NOESY (500 MHz, D₂O) del ensamblado supramolecular **19b**.

Finalmente, para el ensamblado supramolecular **19c**, el espectro bidimensional NOESY de RMN se observa en la región correspondiente a los protones internos de la cavidad de la β -CD, las señales asignadas a H-3 y H-5 ($\delta \approx 3.60$ – 3.75 ppm), las cuales presentan múltiples correlaciones H/H con las señales alifáticas del profármaco localizadas entre $\delta \approx 1.30$ y 1.90 ppm. En particular, se observan contactos espaciales en las coordenadas aproximadas ($\delta_2/\delta_1 \approx 1.86/3.64$ ppm, $1.56/3.63$ ppm, $1.48/3.63$ ppm y $1.36/3.63$ ppm), lo que confirma la proximidad espacial H/H entre el anillo de Ad procedente del profármaco **13c** y el interior de la cavidad de la β -CD. Adicionalmente, se detectan correlaciones espaciales H/H entre los metilos del anillo de penicilina del profármaco en la región de $\delta \approx 1.05$ – 1.16 ppm y protones de la β -CD situados a $\delta \approx 3.37$ – 3.39 ppm, correspondientes a los protones de externos H-2 y H-4, lo que indica una proximidad espacial de los protones de los metilenos de la penicilina con los de la superficie externa de la β -CD. En comparación con los ensamblados previos (**19a** y **19b**), el ensamblado supramolecular **19c** muestra una mayor densidad de interacciones espaciales H/H entre los protones internos de la β -CD y el anillo de Ad del profármaco **13c**, lo que sugiere un menor grado de movilidad conformacional y una interacción anfitrión-huésped–más eficiente (**Figura 48**).

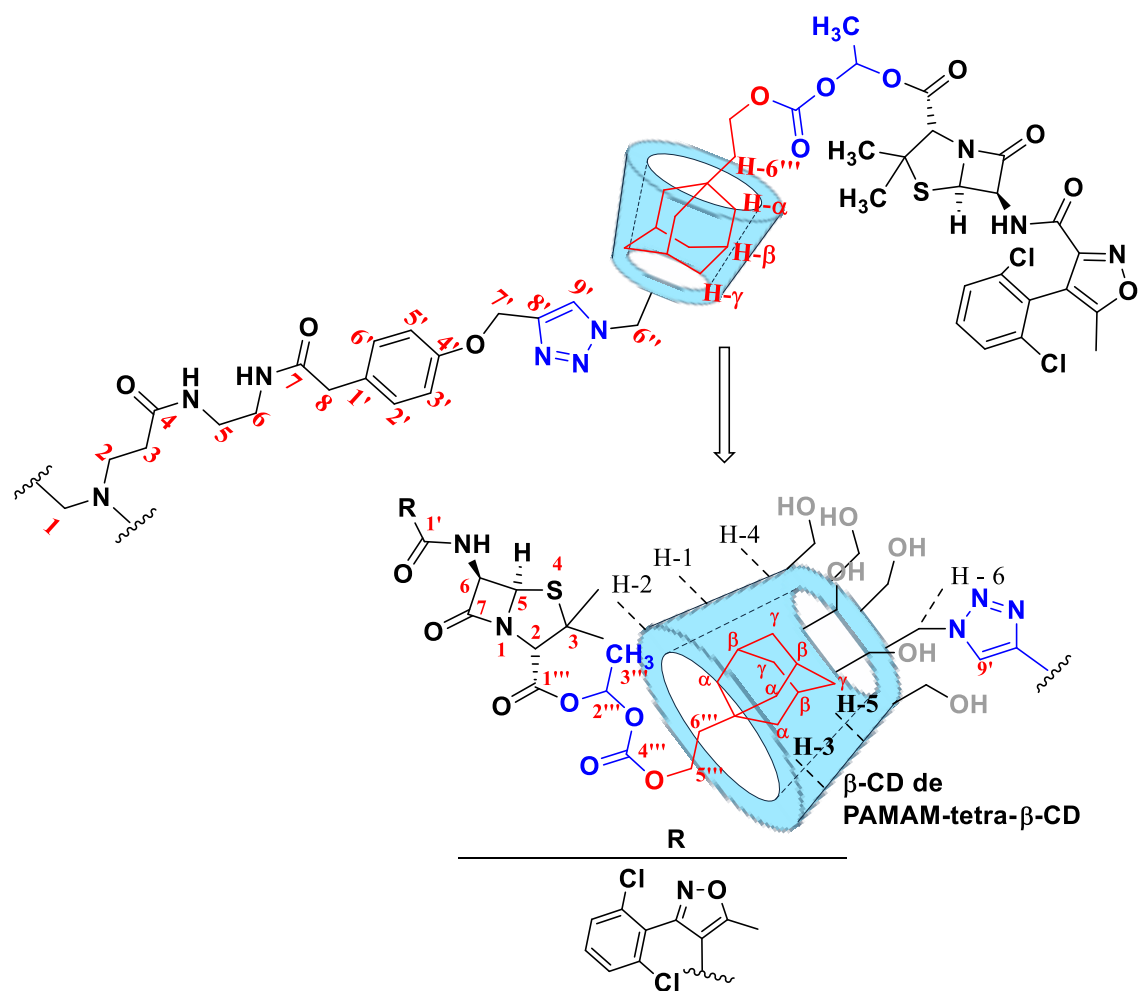


Figura 47. Asignación de los protones presentes en el CI 19c.

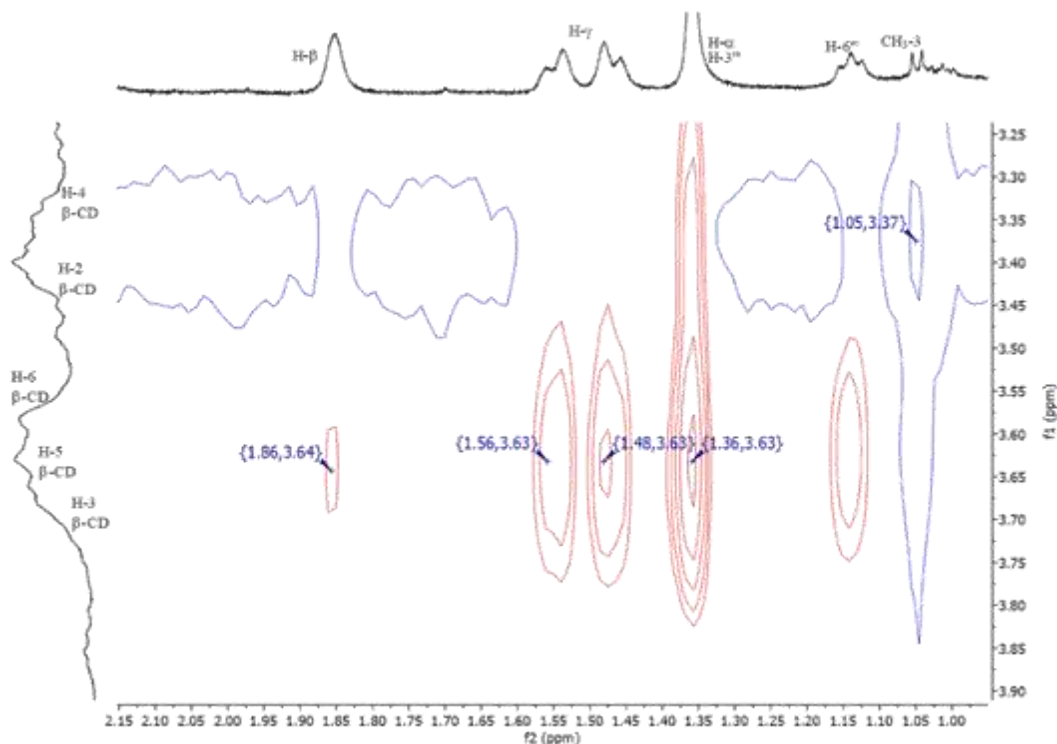


Figura 48. Espectro de RMN 2D NOESY (500 MHz, D₂O) del ensamblado supramolecular **19c**.

Con base en el análisis de estas interacciones se demuestra la formación de CIs entre los profármacos **13a-c** y las unidades periféricas de β-CD del dendrímero PAMAM-tetra-β-CD y asimismo se puede considerar como una plataforma innovadora para la carga de antibióticos basada en interacciones supramoleculares– anfitrión-huésped.

7.7 Análisis por DSC de los CIs 19a-c

Se realizó la caracterización en estado sólido de los CI entre el dendrímero PAMAM-tetra-β-CD y los profármacos **13a-c** (etiquetados como **19a-c**) mediante estudios de DSC. En la curva para el profármaco **13a** (línea negra, **Figura 49**), se observan las transiciones térmicas descritas en la sección 6.3. Por su parte, el dendrímero PAMAM-tetra-β-CD (línea roja, **Figura 49**) presenta una transición endotérmica entre 70-110 °C, correspondiente a la pérdida de humedad; tras este intervalo, no se detectan otros cambios. Respecto a la MF entre ambos componentes (línea azul, **Figura 49**), se aprecia una señal entre 60-90 °C que coincide con la pérdida de humedad del dendrímero. A temperaturas superiores, no se observa con claridad el punto de fusión del profármaco **13a**, sino una transición endotérmica a los 250 °C vinculada a su degradación. Esto confirma que en la MF no existen interacciones supramoleculares.

Finalmente, el perfil térmico del CI **19a** muestra un comportamiento significativamente diferente al de sus precursores. Entre 60-80 °C ocurre una transición endotérmica por pérdida de humedad; esta sucede a una temperatura menor que en los componentes individuales

debido a la presencia de moléculas de agua no ligada. Posteriormente, entre 200-230 °C (línea verde, **Figura 49**), se observa otra transición que no coincide con el punto de fusión del profármaco **13a**, lo que sugiere la formación de una nueva fase sólida y comprueba la obtención del CI.

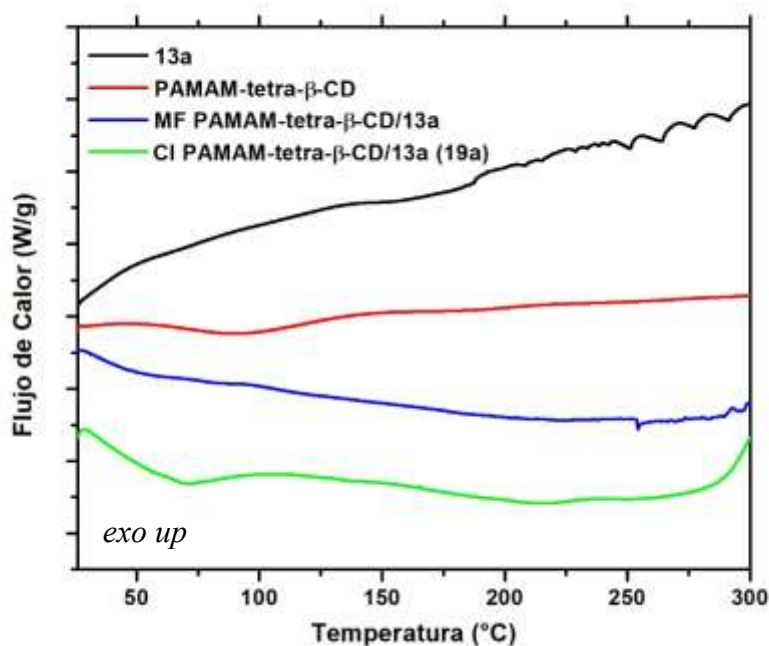


Figura 49. DSC del CI PAMAM-tetra-β-CD **19a**.

La curva DSC para el CI **19b** muestra los perfiles térmicos de cada componente, y las transiciones térmicas para el profármaco **13b** se describen en la sección 6.4, y el comportamiento para el dendrímero PAMAM se describió en el párrafo anterior. Respecto a la MF (línea azul, **Figura 50**) se observa una transición endotérmica entre 60-90 °C que coincide con la pérdida de humedad del dendrímero PAMAM, posteriormente a 220 °C, se observa una segunda transición endotérmica que se asocia al punto de fusión del profármaco **13b**, de tal forma que ambas entidades conservan su comportamiento térmico como entidades individuales. Por otra parte, el CI **19b** entre el dendrímero PAMAM-tetra-β-CD/profármaco **13b** (línea verde, **Figura 50**), muestra la pérdida de humedad entre 60-80°C, después de esta temperatura no se observa ninguna otra transición térmica, por ejemplo, ya no se observan los eventos térmicos asociados al profármaco **13b**, lo que sugiere una formación de CI en el sistema dendrítico, lo que confirma una interacción anfitrión-huésped.

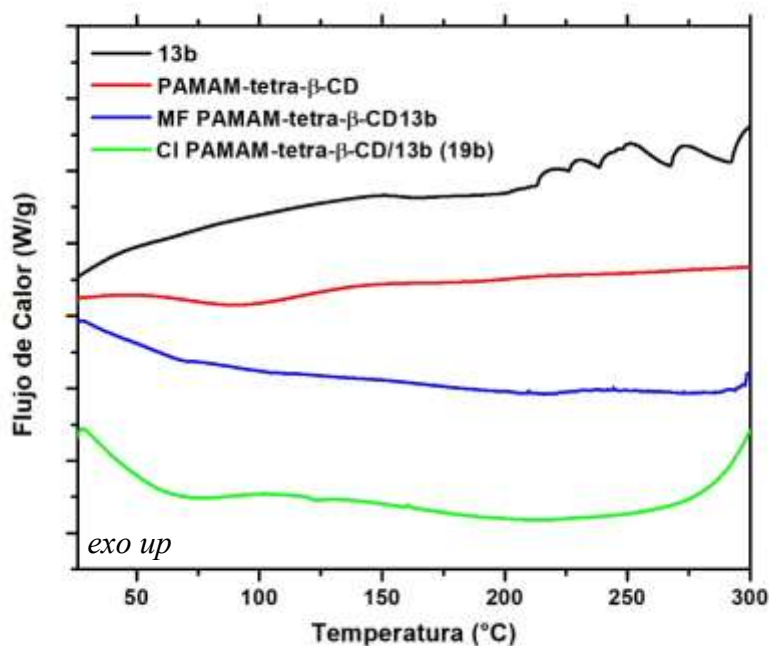


Figura 50. DSC del CI PAMAM-tetra- β -CD **19b**.

La curva DSC del ensamblado **19c** revela en primera instancia, las transiciones térmicas asociadas al profármaco **13c** previamente descritas en la sección 6.5. Por otra parte, el comportamiento del dendrímero PAMAM-tetra- β -CD muestra nuevamente el perfil característico de un sólido amorfo con pérdida de agua en la superficie del dendrímero, así como en las cavidades de las unidades periféricas de la β -CD entre 80-120 °C (línea roja, **Figura 51**). Por otra parte, la MF entre el dendrímero PAMAM/profármaco **13c** (línea azul, **Figura 51**) muestra un evento endotérmico 60-80 °C la característica pérdida de humedad en la muestra, después a 250 °C, una segunda transición endotérmica atribuible al punto de fusión del profármaco **13c**, de esta manera se demuestra que los componentes individuales conservan sus propiedades térmicas, es decir, el profármaco **13c** y el dendrímero PAMAM-tetra- β -CD no generan una nueva fase sólida. Finalmente, la curva DSC del CI **19c** (línea verde, **Figura 51**), muestra un pico endotérmico a los 90 °C, atribuible a la pérdida de agua superficial de la estructura dendrítica, pero no en las cavidades de las unidades periféricas de las β -CDs y no se observa ninguna otra transición térmica hasta los 290 °C, la desaparición de los eventos asociados al profármaco **13c** y a la disminución de la temperatura de pérdida de humedad, sugiere una formación de los CIs, de manera que se tiene evidencia de la formación de una nueva fase sólida (**Figura 51**).

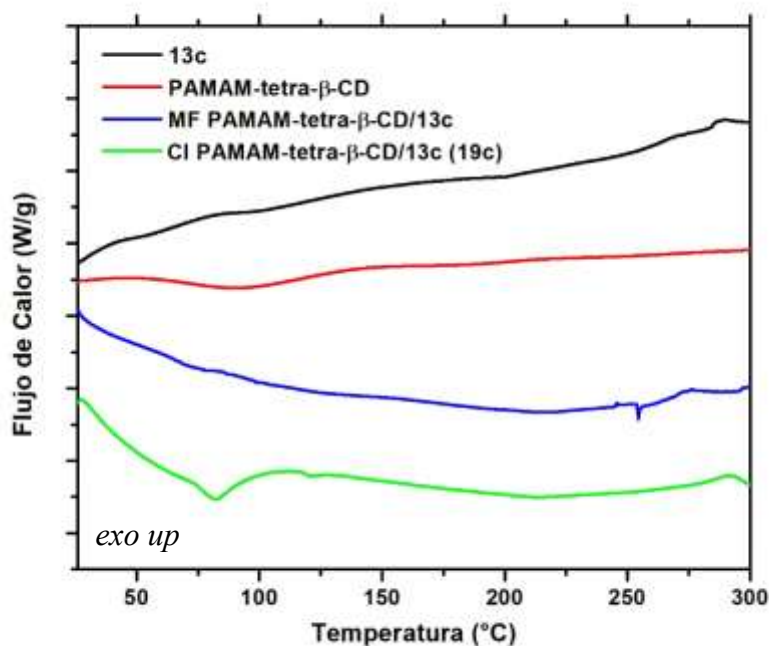


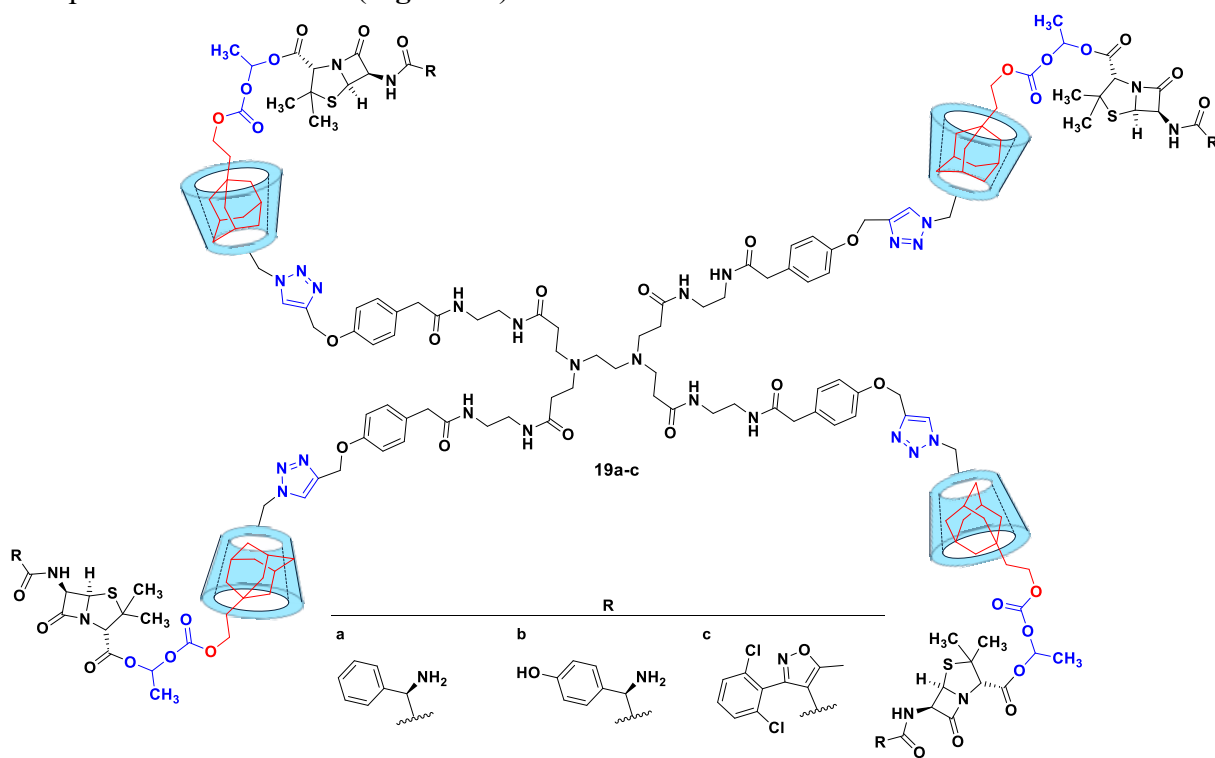
Figura 51. DSC del CI PAMAM-tetra- β -CD **19c**.

De esta manera se confirma la formación de los CIs entre el dendrímero PAMAM-tetra- β -CD y los profármacos **13a-c**, ya que los termogramas de los CIs evidencian que se ha formado una nueva fase sólida con respecto a las MFs y los respectivos profármacos **13a-c** sin conjugar con el dendrímero PAMAM, por lo cual, se demuestra la inclusión de los profármacos **13a-c** en las cavidades de las unidades periféricas de β -CD.

7.8 Análisis del tamaño de partícula de los CIs **19a-c** por la técnica de DLS

Se determinó el tamaño de partícula por la técnica de DLS para los ensamblados **19a-c**, preparando las muestras a una concentración de 540 μ M en agua desionizada como se analizaron los CI **14a-c**, se realizaron mediciones en 3 corridas de 13 repeticiones, con el objetivo de analizar la naturaleza de autoorganización supramolecular de las unidades de profármaco en el dendrímero. El ensamblado **19a** presentó un diámetro hidrodinámico promedio (*Z-average*) de 5 431 nm, acompañado de un índice de polidispersidad (PDI) de 0.338, lo que evidencia la formación de agregados supramoleculares de tamaño micrométrico, con una distribución relativamente amplia de tamaños, atribuible a procesos de agregación promovidos por la elevada densidad funcional, es decir, un sistema supramolecular en donde se presenta un gran número de grupos funcionales activos concentrados en un volumen o superficie molecular relativamente pequeño. Por otra parte, la formación de dichos agregados supramoleculares también puede deberse al efecto de concentración, es decir que las soluciones están muy concentradas a 540 μ M y esto promueve

la formación de agregados. Por otra parte, el ensamblado **19b** muestra un *Z-average* aún mayor, con un diámetro hidrodinámico de 7 648 nm, con un PDI de 0.450, indicando una población altamente heterogénea y una marcada tendencia a la agregación, lo que sugiere que la naturaleza estructural del profármaco **13b** favorece interacciones intermoleculares adicionales, tales como asociaciones hidrofóbicas y puentes de hidrógeno (atribuible al hidroxilo en posición *para* del fenilo del profármaco), que conducen a la formación de ensamblados supramoleculares de gran tamaño y por ende una baja uniformidad coloidal. En contraste con los resultados anteriores, el sistema **19c** mostró un comportamiento notablemente distinto, con un radio hidrodinámico promedio de 229.8 nm y un PDI de 0.279, lo cual indica la formación de nanoensamblados mucho más pequeños y relativamente homogéneos, reflejando una organización supramolecular que permite obtener nanopartículas en solución (**Figura 52**).



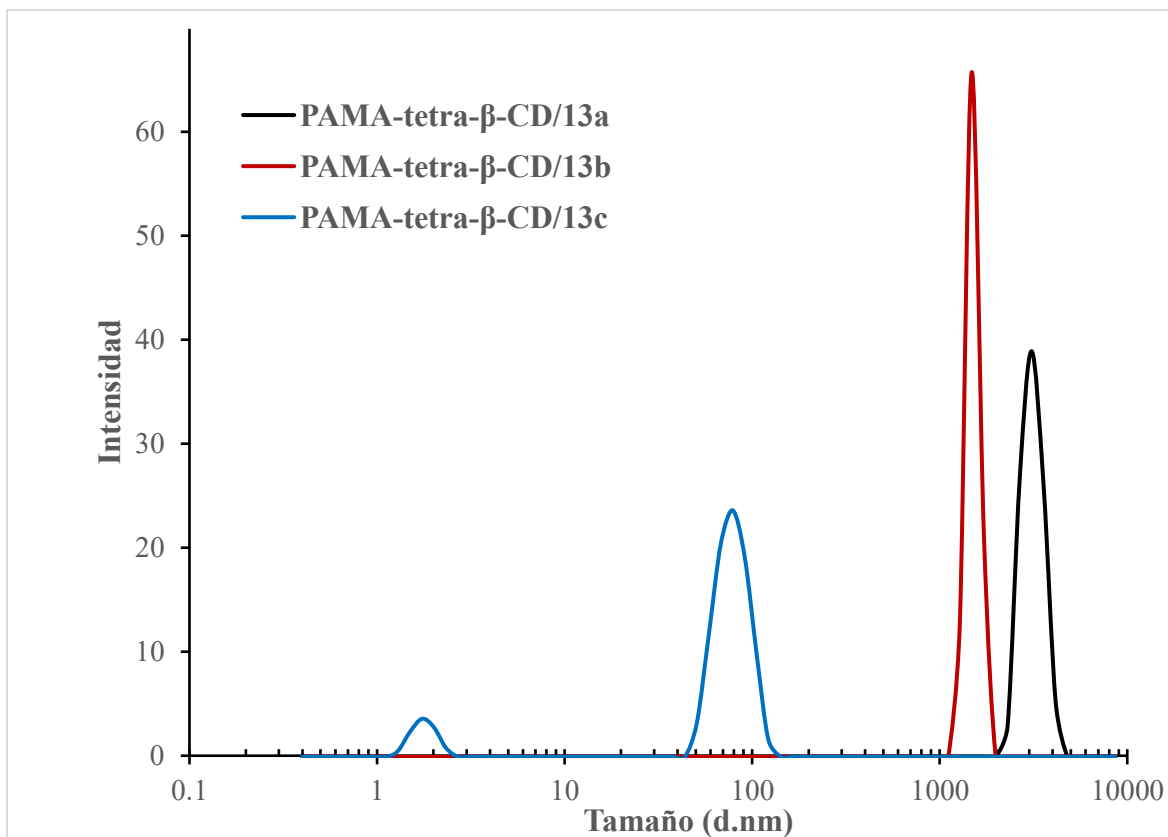


Figura 52. Determinación del tamaño de partícula por DLS de los ensamblados **19a-c**.

De esta manera, los resultados ponen de manifiesto que, si bien la arquitectura dendrítica promueve la formación de agregados de gran tamaño en los ensamblados **19a** y **19b**, la estructura química específica del profármaco en **13c** en el ensamblado **19c** permite modular de manera efectiva el grado de agregación, favoreciendo la obtención de nanoestructuras más definidas y potencialmente más adecuadas para aplicaciones farmacéuticas.

CAPÍTULO VIII. CONCLUSIONES

- ✓ Se diseñaron y sintetizaron 3 profármacos β -lactámicos de tipo penicilina: ampicilina, amoxicilina y dicloxacilina a través de la incorporación del *linker* **10** vía una reacción de esterificación, estos profármacos incorporan en su estructura un anillo de Ad que permite ensamblarse de manera específica con la β -CD con rendimientos químicos entre 50-85 % y se caracterizaron mediante Resonancia Magnética Nuclear de ^1H , ^{13}C -DEPTQ, FT-IR y DART⁺, de modo que se establecieron condiciones óptimas de reacción para su obtención.
- ✓ Se determinó la cinética de hidrólisis de los 3 profármacos β -lactámicos obtenidos **13a-c** en S.A (pH = 1.2), los cuales muestran una hidrólisis controlada por pH ácido y un comportamiento de hidrólisis prolongada hasta las 72 h.
- ✓ Se demostró la formación de CI entre los profármacos **13a-c**/ β -CD, dada la incorporación de un anillo de Ad en la estructura de los profármacos, lo que permitió que se autoensamblaran de manera específica con la cavidad de la β -CD.
- ✓ Se determinó el tamaño de partícula de los CI **14a-c** a través de estudios por DLS; los cuales presentan tamaños de radio hidrodinámico promedio (*Z-average*) de: 145.3 nm para **14a**, 150.9 nm para **14b** y el CI **14c** exhibió tamaño hidrodinámico promedio de 135.5 nm a una concentración de 540 μM .
- ✓ Se sintetizó el dendrímero PAMAM-tetra- β -CD a través de química *click* vía una síntesis divergente y se realizó el autoensamblaje entre los profármacos **13a-c** para formar los correspondientes CIs **19a-c**, mostrando que el dendrímero PAMAM-tetra- β -CD tiene la capacidad de cargar 4 unidades de profármaco en su estructura dendrítica mediante experimentos de Resonancia Magnética Nuclear en 2D de efecto Overhauser.
- ✓ Se obtuvo una nueva plataforma dendrítica como un sistema de liberación de antibióticos β -lactámicos de tipo penicilina, cuyo sistema y diseño responde a una liberación controlada por pH ácido, el diseño responde a una propuesta para mejorar el perfil biofarmacéutico de antibióticos β -lactámicos y con esto disminuir los efectos adversos de las formas farmacéuticas convencionales.

CAPÍTULO IX. SECCIÓN EXPERIMENTAL

9.1 Información general

Los reactivos fueron adquiridos de la casa Merck-Sigma Aldrich-México y otras distribuidoras de materiales, así como reactivos y equipos de laboratorio. Los reactivos se emplearon sin purificación adicional, exceptuando la destilación de los disolventes para cromatografía en columna flash. Todas las reacciones se llevaron a cabo en atmósfera de Argón, excepto en la formación de complejos de inclusión con β -CD. El seguimiento de las reacciones se realizó por cromatografía en capa fina (TLC, por sus siglas en inglés, en láminas de aluminio gel de sílice 60 F254), las placas se visualizaron con lámpara de luz UV o empleando un revelador químico, yodo o solución de KMnO_4 . La purificación de los productos se realizó mediante cromatografía en columna flash empleando gel de sílice Merck 60® (200-400 nm).

Se empleó un espectrofotómetro UV-vis VE-5600UV PC para cuantificar la cantidad de antibiótico libre de cada cinética de hidrólisis, empleando las correspondientes curvas de calibración y se empleó un espectrómetro infrarrojo por transformada de Fourier NICOLET 6700 para la caracterización de los productos obtenidos. Por otra parte, se utilizó un espectrómetro de masas JEOL JMS-T100LP AccuTOF para la adquisición de espectros DART⁺. Los espectros de RMN se adquirieron con un espectrómetro Varian Bruker Advance III HD de 500 MHz. Las constantes de acoplamiento (J) se encuentran dadas en Hertz (Hz), los desplazamientos químicos (δ) se reportaron en partes por millón (ppm) con respecto a la referencia interna de Tetrametilsilano (TMS) y utilizando Cloroformo deuterado (CDCl_3), Dimetilsulfóxido deuterado ($\text{DMSO}-d_6$) y agua deuterada (D_2O) como disolventes.

La multiplicidad de las señales se expresa con las siguientes abreviaturas: **s** para indicar una señal simple, **d** para una señal doble, **t** para una señal triple, **m** para una señal múltiple y **sa** para una señal ancha, empleando en ocasiones combinaciones de ellas

9.2 Métodos generales

9.2.1 Preparación de revelador de KMnO_4

En un recipiente ámbar se añadió 1 g de KMnO_4 y se añadieron 100 mL de H_2O desionizada, se agitó hasta obtener una solución homogénea, posteriormente se añadieron 10 mL de una solución acuosa de NaOH al 10 % (H_2O desionizada) y de igual forma se agitó bien la mezcla para homogenizar.

9.2.2 Preparación de S.A. pH = 1.2

Se siguió el método establecido por la Farmacopea de los Estados Unidos Mexicanos en su edición 2021. En un matraz volumétrico de 100 mL, se mezclaron 25 mL de una solución acuosa 0.2 M de KCl y 42.5 mL de una solución de HCl 0.2 M y se llevó a volumen con agua desionizada (para las soluciones de HCl y KCl se utilizó igualmente agua desionizada).

9.2.3 Preparación de las cinéticas de hidrólisis

En un matraz Erlenmeyer de 50 mL se añadieron 30 mL de S.A. pH = 1.2, posteriormente, el matraz Erlenmeyer se colocó en una manta de calentamiento a 37 °C y se dejó durante un lapso de 15 minutos para alcanzar el equilibrio. Posteriormente, se añadió la cantidad de profármaco para llevar a una concentración de 0.2536 mM (para los 3 profármacos) y se cubrió el matraz Erlenmeyer con aluminio. Se tomaron alícuotas de máximo 2 mL en intervalos de tiempo de 1, 3, 5, 7, 9, 12, 24, 48 y 72 horas, una vez tomada la alícuota se procedió a realizar las mediciones en el espectrofotómetro de UV-vis.

9.2.4 Determinación del tamaño de partícula por DLS

Para los CI **14a-c**, se prepararon soluciones a una concentración constante en todos los casos de 540 µM en agua desionizada, posteriormente cada CI se filtró a través de un filtro de 0.45 µm, posteriormente cada muestra se analizó en el equipo de DLS con el *software Zetasizer*, y se determinó el tamaño de partícula por triplicado.

Para los CI **19a-c**, de igual forma se prepararon soluciones a una concentración constante de 540 µM en agua desionizada y se repitió el procedimiento anterior; fueron filtrados y llevados al equipo para su análisis de igual forma por triplicado.

Los parámetros en que se configuró el equipo para todos los ensayos fueron: índice de refracción de 1.590 con absorción de 0.01 con 3 corridas de 13 repeticiones.

9.2.5 Preparación de los análisis de DSC/TGA

Los parámetros de los análisis DSC y TGA que se utilizaron para el análisis de los CI **14a-c** fueron; rampa de calentamiento de 10 °C/min, sobre una atmósfera de nitrógeno y empleando portamuestras de aluminio de 40 µL. Estos mismos parámetros fueron empleados para los análisis DSC y TGA de los CI **19a-c**.

9.2.6 RMN de antibióticos β-lactámicos

Ampicilina (12a)

¹H NMR (500 MHz, DMSO-*d*₆) δ 7.59 – 7.44 (m, 2H, H-2'', H-6''), 7.35 (m, 1H, H-4''), 7.33 – 7.25 (m, 2H, H-3'', H-5''), 5.47 (dd, *J* = 8.4, 4.0 Hz, 1H, H-6), 5.36 (dd, *J* = 23.4, 4.0 Hz, 1H, H-5), 4.77 – 4.70 (m, 1H, H-2'), 4.09 (d, *J* = 7.8 Hz, 1H, H-2), 1.54 (s, 3H, H-CH₃), 1.41 (s, 3H, CH₃). ¹³C NMR (126 MHz, DMSO) δ 173.09 (C-7), 170.99 (C-COOH), 169.14 (C-1'), 137.65 (C-1''), 128.28 (C-2'', C-6''), 127.84 (C-4''), 126.81 (C-3'', C-5''), 71.82 (C-2), 66.95 (C-5), 64.02 (C-3), 57.69 (C-6), 56.92 (C-2'), 30.91 (C-CH₃), 26.86 (C-CH₃).

Amoxicilina (12b)

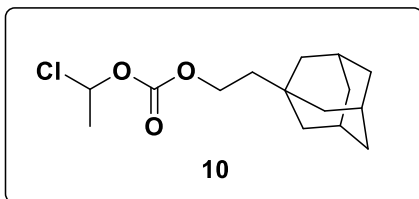
¹H NMR (500 MHz, DMSO-*d*₆) δ 7.24 – 7.21 (m, 2H, H-2'', H-6''), 6.76 – 6.71 (m, 2H, H-3'', H-5''), 5.45 (q, *J* = 4.2 Hz, 1H, H-6), 5.36 (d, *J* = 4.0 ¹³C NMR (126 MHz, DMSO) δ 173.0 (C-7), 170.61 (C-COOH), 169.15 (C-1'), 157.43 (C-4''), 129.41 (C-1''), 128.52 (C-2'', C-6''), 115.10 (C-3'', C-5''), 72.30 (C-2), 66.81 (C-5), 64.11 (C-3), 57.50 (C-6), 56.04 (C-2'), 30.91 (C-CH₃), 27.00 (C-CH₃).

Dicloxacilina (12c)

^1H NMR (500 MHz, DMSO- d_6) δ 8.07 (d, J = 7.8 Hz, 1H, H-4'-CONH), 7.64 (ddd, J = 8.1, 6.6, 1.3 Hz, 2H, H-3'', H-5''), 7.60 – 7.55 (m, 1H, H-4''), 5.41 (dd, J = 7.8, 3.9 Hz, 1H, H-6), 5.37 (d, J = 3.9 Hz, 1H, H-5), 3.86 (s, 1H, H-2), 2.73 (s, 3H, H-5', CH₃), 1.44 (d, J = 12.1 Hz, 6H, H-3, CH₃). ^{13}C NMR (126 MHz, DMSO) δ 172.14 (C-5'), 171.94 (C-7), 169.40 (C-2-COOH), 159.52 (C-4'-CONH), 157.32 (C-3'), 134.79 (C-2''), 134.45 (C-6''), 132.65 (C-4''), 128.64 (C-3'', C-5''), 126.72 (C-1''), 112.18 (C-4'), 73.87 (C-2), 66.80 (C-5), 64.55 (C-3), 57.95 (C-6), 32.52 (C-3, CH₃), 27.30 (C-3, CH₃), 12.90 (C-5', CH₃).

9.3 Métodos sintéticos

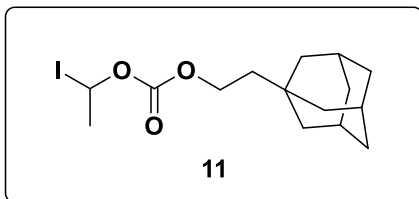
Preparación del carbonato de 2-adamantan-1-il-etilo (1-cloroetilo) **10**.



A un matraz bola de 25 mL provisto de un agitador magnético se le añadieron 600 mg (3.32 mmol, 1.0 eq) de 1-adamantan-etanol **9**, el matraz se selló y se purgó con atmósfera de Argón. Una vez purgado se añadieron 5 mL de CH₂Cl₂ anhidro y posteriormente se le añadieron

1.15 mL (6.65 mmol, 2 eq) de DIPEA o Et₃N gota a gota. Una vez añadida la base, se añadieron 0.59 mL (6.65 mmol, 2 eq) de cloroformiato de 1-cloroetilo gota a gota y la mezcla de reacción se dejó en agitación durante 24 horas a temperatura ambiente. El crudo de reacción se lavó con una solución acuosa de HCl 1 N, una solución acuosa saturada de NaCl y agua. La fase orgánica se secó con Na₂SO₄ anhidro, se filtró y se concentró al vacío para obtener el compuesto **10** (1.236 g, 4.3216 mmol, 98 % de rendimiento químico) en forma de un aceite ligeramente amarillo. FTIR: 2899.50 (C-H), 1759.75 (C=O), 1450.23 (C-Cl), 1132.92 (C-O) cm⁻¹. ^1H NMR (500 MHz, CDCl₃) δ 6.43 (q, J = 5.8 Hz, 1H, H-1''), 4.33 – 4.21 (m, 2H, H-1), 1.95 (dt, J = 6.2, 2.4 Hz, 3H, H- β), 1.83 (d, J = 5.8 Hz, 3H, H-2''), 1.74 – 1.60 (m, 6H, H- γ), 1.53 (m, 6H, H- α), 1.51 – 1.48 (m, 2H, H-2). ^{13}C NMR (126 MHz, CDCl₃) δ 153.12 (C=O), 84.65 (C-1''), 65.81 (C-1), 42.56 (C- α), 42.30 (C-2), 37.08 (C- γ), 31.85 (C-quát-adamantan), 28.66 (C- β), 25.38 (C-2''). LRMS (DART⁺) calculado para C₁₅H₂₃ClO₃ [M + H] m/z 287, encontrado [M + H] m/z 287.

Preparación del carbonato de 2-adamantan-1-il-etilo (1-yodoetilo) **11**.

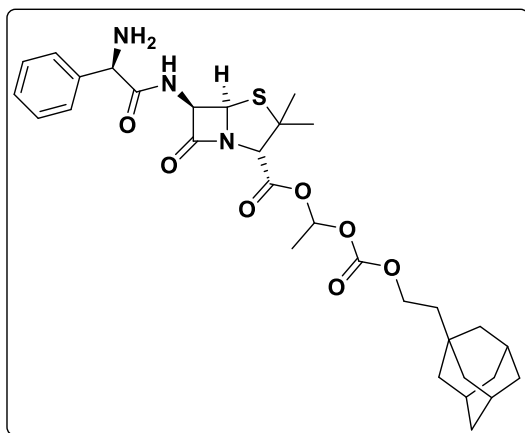


A un matraz bola de 25 mL se le colocó un agitador magnético y 0.302 g (1.0529 mmol) del carbonato de 2-adamantan-1-il-etilo (1-cloroetilo) **10** y se le añadieron 0.473 g de NaI (3.1589 mmol, 3 eq), el matraz se selló y se purgó con Argón. Posteriormente, se le añadieron 10

mL de acetona anhidra, el matraz se colocó en una malla de calentamiento a 40 °C y se cubrió con aluminio durante 24 horas. Posteriormente, se retiró la agitación y el disolvente se retiró al vacío. Se realizaron lavados DCM: Na₂SO₃ al 10 % y H₂O. La fase orgánica se secó con Na₂SO₄ y posteriormente se evaporó el disolvente al vacío para obtener un líquido amarillo oscuro con un rendimiento químico del 72 % (0.286 g, 0.7561 mmol). ^1H NMR (500 MHz,

CDCl₃) δ 6.43 (q, J = 5.8 Hz, 1H, H-1''), 4.31 – 4.22 (m, 2H, H-1), 1.94 (m, 3H, H- β), 1.83 (d, J = 5.8 Hz, 3H, H-2''), 1.73 – 1.60 (m, 2H, H-2) 1.56 – 1.46 (m, 12H, H- γ , H- α). ¹³C NMR (126 MHz, CDCl₃) δ 153.12 (C=O,) 84.65 (C-1''), 65.80 (C-1), 42.91 (C-2'), 42.55 (C-8'), 40.86 (C-1'), 40.41 (C-9'), 37.23 (C-4'), 37.15 (C-2), 37.11 (C-6'), 37.06 (C-10'), 28.79 (C-3'), 28.72 (C-5'), 28.66 (C-7'), 25.37 (C-2'').

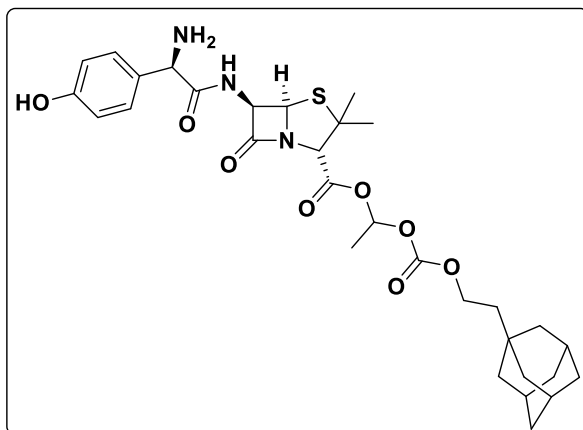
Preparación del profármaco β -lactámico **13a**.



A un matraz bola de 25 mL provisto de un agitador magnético se le agregaron 250 mg de ampicilina (0.7154 mmol), 932 mg de Cs₂CO₃ (2.8616 mmol, 4 eq) y 27.3 mg de KI (0.1645 mmol, 0.1 eq respecto a **10**). Por otra parte, en otro matraz se pusieron 417 mg del *linker* **10** (1.6456 mmol, 2.4 eq). Posteriormente, ambos matraces se sellaron y se purgaron con atmósfera de Argón durante 10 minutos, una vez transcurrido el tiempo se le añadieron 3 mL de DMF anhidra al matraz con la Ampicilina y se

colocó en una manta de calentamiento a 40 °C. Posteriormente se añadieron 3 mL de DMF anhidra al matraz con el *linker* **10** y se transfirió vía cánula al matraz que contenía la ampicilina, la mezcla de reacción resultante se dejó en agitación y atmósfera de Argón a 40 °C durante 48 horas. Una vez transcurrido el tiempo, la DMF se evaporó a presión reducida y al crudo de reacción resultante se le realizaron lavados DCM: NaCl acuoso y H₂O. La fase orgánica se secó con Na₂SO₄ y posteriormente se evaporó el disolvente. Posteriormente, se realizó una cromatografía en columna abierta utilizando un sistema de elución 9:1 DCM: MeOH. Las fracciones en donde se encontró el compuesto se evaporaron y se secaron en vacío para obtener el profármaco **13a** y se mantuvo secando en vacío, hasta obtener un sólido rojo oscuro con un rendimiento químico del 80 % (356.2 mg, 0.5939 mmol). FT-IR 3285.20 (N-H), 3278.45 (N-H), 2955.42 (C-H), 2885.03 (C-H), 2861.89 (C-H), 2818.50 (C-H), 1696.11 (C=O), 1677.79 (C=O), 1228.45 (C-N), 1201.45 (C-O), 1056.82 (C-O) cm⁻¹. ¹H NMR (500 MHz, DMSO-*d*₆) δ 7.50 (dd, J = 7.8, 7.5 Hz, 3H, H-2'', H-6''), 7.35 (ddd, J = 7.8, 4.4, 2.4 Hz, 3H, H-5'', H-3'', H-4''), 6.89 (q, J = 5.6 Hz, 1H, H-2'''), 5.26 (s, 1H, H-2'), 4.65 (d, J = 12.5 Hz, 1H, H-5), 4.58 (d, J = 10.2 Hz, 1H, H-6), 4.01 (m, 2H, H-5'''), 3.71 (s, 1H, H-2), 1.89 (m, 3H, H- β), 1.61 (m, 3H, H-3'''), 1.57 – 1.38 (m, 14H, H- γ , H- α , H-6'''), 1.07 (m, 6H, CH₃-3). ¹³C NMR (126 MHz, DMSO-*d*₆) δ 172.86 (C-7), 171.32 (C-1'''), 168.39 (C-1'), 152.90 (C-5'''), 139.58 (C-1''), 128.25 (C-2'', C-6''), 128.02 (C-3'', C-5''), 127.59 (C-4''), 89.22 (C-2'''), 71.81 (C-2), 70.23 (C-5), 63.07 (C-3), 62.41 (C-5'''), 61.91 (C-6), 59.39 (C-2'), 47.44 (C- β), 41.94 (C- α), 37.42 (C-6'''), 36.25 (C- γ), 31.76 (C-cuaternario-Adamantano), 28.08 (CH₃, CH₃, C-3), 20.21 (C-3'''). LRMS (DART⁺) calculado para C₃₁H₄₂N₃O₇S [M + H] m/z 600 observado [M + H] m/z 600.

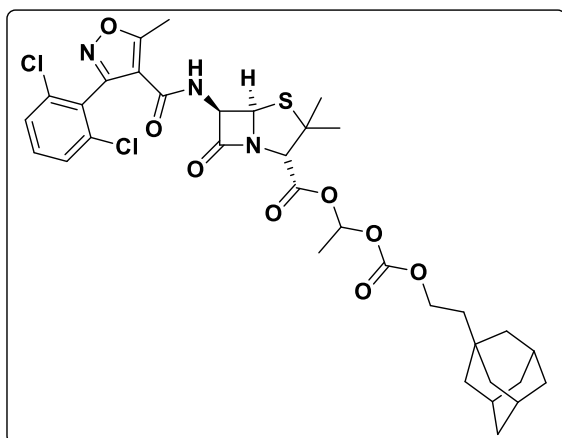
Preparación del profármaco β -lactámico **13b**.



En un matraz bola de 25 mL se le añadieron 316 mg de amoxicilina (0.8663 mmol), 1.129 g de Cs_2CO_3 (3.4652 mmol, 4 eq), 37 mg de KI (0.2252 mmol, 0.1 eq respecto al *linker* **10**) y un agitador magnético. El matraz se selló y se purgó con atmósfera de argón durante 10 minutos y se colocó en una manta de calentamiento a 40 °C y se le añadieron 3 mL de DMF anhidra. Por otra parte, en un matraz adicional se añadieron 646 mg del *linker* **10** (2.2524 mmol, 2.6 eq),

el matraz se selló e igualmente se purgó con atmósfera de Argón durante 10 minutos, transcurrido el tiempo se añadieron 4 mL de DMF anhidra y se trasvasó vía cánula al otro matraz. La mezcla resultante se dejó en agitación, atmósfera de argón y a 40 °C durante 2 días. Una vez transcurrido el tiempo el disolvente se evaporó a presión reducida, se realizaron lavados DCM: NaCl acuoso y H_2O , a la fase orgánica se le añadió Na_2SO_4 y posteriormente se evaporó el disolvente. La mezcla resultante se sometió a una cromatografía en columna comenzado con 100 % DCM, hasta una proporción 9:1 DCM: MeOH. Las fracciones en donde se encontró el compuesto se evaporaron y se secaron en vacío. De esta manera se obtuvo el profármaco **13b** con un rendimiento químico del 50 % (253 mg, 0.4108 mmol) como un sólido rojo oscuro. FTIR 3298.69 (N-H), 3290.02 (OH), 2892.75 (C-H), 2888.89 (C-H), 2836.82 (C-H), 1696.11 (C=O), 1677.79 (C=O), 1231.35 (C-N), 1189.88 (C-O), 1052.96 (C-O) cm^{-1} . ^1H NMR (500 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) δ 7.24 – 7.16 (m, 2H, H-6'', H-2''), 6.99 – 6.86 (m, 1H, H-2'''), 6.76 – 6.70 (m, 2H, H-3'', H-5''), 6.10 (s, 1H-2'), 4.96 (s, 1H, H-5), 4.29 – 4.18 (m, 3H, H-6, H-5'''), 3.44 (td, $J = 7.7, 4.4$ Hz, 1H, H-2), 1.92 (m, 5H, H-6''', H- β), 1.60 (s, 6H, H- γ), 1.46 (s, 6H, H- α , H-3'''), 1.24 (m, 3H, H-6'''), 1.07 (s, 6H, CH_3 -3). ^{13}C NMR (126 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) δ 171.56 (C-7) 161.61 (C-1'), 159.31 (C-1'''), 153.00 (C-4''), 149.29 (C-4'''), 121.82 (C-2'', C-6''), 119.04 (C-1''), 114.86 (C-3'', C-5''), 87.34 (C-2'''), 72.88 (C-2), 70.53 (C-5), 64.98 (C-3), 56.24 (C-5'''), 47.93 (C-6), 46.92 (C-2'), 42.28 C-6'''), 41.80 (C- α), 36.45 (C- γ), 31.31 (C-cuaternario-Adamantano), 28.06 (C- β), 27.94 (CH_3 , CH_3 C-3), 20.12 (C-3'''). LRMS (DART⁺) calculado para $\text{C}_{31}\text{H}_{42}\text{N}_3\text{O}_8\text{S}$ [$\text{M} + \text{H}$] m/z 616, encontrado [$\text{M} + \text{H}$] m/z 616.

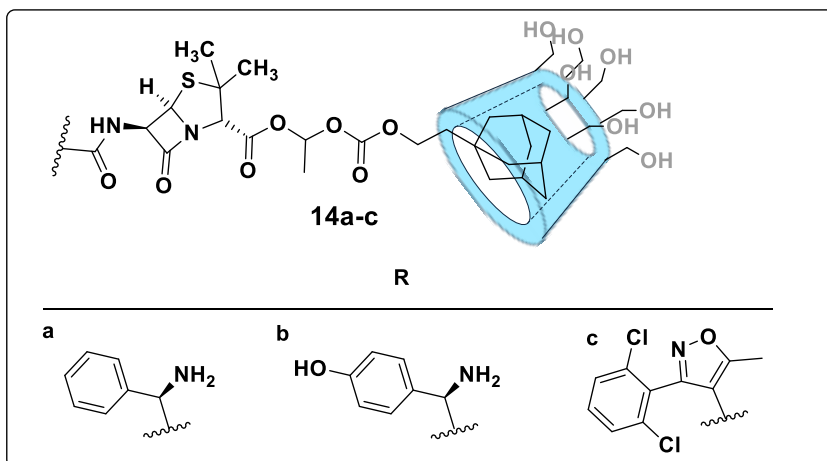
Preparación del profármaco β -lactámico **13c**.



Se siguió el mismo procedimiento que en preparación de los profármacos anteriores. Se pesaron 263 mg de dicloxacilina (0.5603 mmol), 730 mg de Cs_2CO_3 (2.2412 mmol, 4 eq), 24 mg de KI (0.1457 mmol, 0.1 eq respecto al *linker* **10**) y 418 mg del *linker* **10** (1.457 mmol, 2.6 eq). Al final, se obtuvo el profármaco deseado **13c** con un rendimiento químico del 85 % (342 mg, 0.4745 mmol) como un sólido rojo oscuro. FTIR: 2960.24 (C-H), 2888.89 (C-H), 2822.36 (C-H),

1736.61 (C=O), 1728.90 (C=O), 1693.22 (C=O), 1658.51 (C=C), 1413.59 (C=CH), 1067.42 (C-O), 1059.71 (C-O) cm^{-1} . ^1H NMR (500 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) δ 7.69 – 7.48 (m, 3H, H-5'', H-4'', H-3''), 6.77 (q, $J = 5.2$ Hz, 1H, H-2'''), 5.58 (dd, $J = 7.5, 4.2$ Hz, 1H, H-6), 5.48 (dd, $J = 7.5, 4.1$ Hz, 1H, H-5), 3.44 (m, 1H, H-2), 3.18 – 3.10 (m, 2H, H-5'''), 2.75 – 2.67 (s, 3H, CH_3), 1.89 (m, 5H, H- β , H-6'''), 1.68 – 1.53 (m, 12H, H- γ , H- α), 1.43 (d, 3H, H-3'''), 1.27 – 1.20 (s, 3H, CH_3), 1.10 (s, 3H, CH_3). ^{13}C NMR (126 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) δ 182.12 (C-5'), 176.38 (C-7), 170.73 (C-1'''), 165.55 (C-CONH), 158.01 (C-3'), 145.65 (C-4'''), 134.46 (C-6'', C-2''), 132.12 (C-4''), 129.47 (C-5'', C-3''), 126.84 (C-1''), 113.40 (C-4'), 95.93 (C-2'''), 76.94 (C-2), 70.72 (C-5), 69.15 (C-3), 64.56 (C-6), 56.24 (C-5'''), 46.92 (C- α), 42.28 (C-6'''), 36.66 (C- γ), 31.30 (C-cuaternario-Adamantano), 28.05 (C- β), 27.92 (CH_3 , CH_3 , C-3), 22.11 (C-3'''), 13.46 (CH_3 , C-5'). LRMS (DART⁺) calculado para $\text{C}_{34}\text{H}_{40}\text{Cl}_2\text{N}_3\text{O}_8\text{S}$ [M + H] m/z 720.1835, encontrado [M + K] m/z 758.

Método general para la preparación de los CIs **14a-c**.



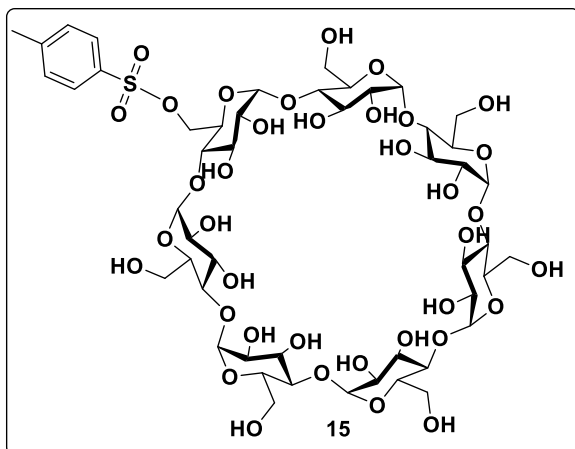
En un vaso de precipitados de 10 mL provisto de un agitador magnético se añadieron 79.8 mg de β -CD (0.0703 mmol, 1 eq), y 4 mL de agua desionizada. En otro vial se disolvieron 42.2 mg del profármaco **13a** (0.0703 mmol, 1 eq) en 0.7 mL de MeOH, una vez

disuelto se añadió gota a gota al vaso de precipitados que contenía la β -CD y se dejó en agitación durante 12 horas. Transcurrido el tiempo la mezcla obtenida se sometió a un

proceso de liofilización para obtener al CI **14a** en proporciones cuantitativas (122 mg) como un polvo color beige. Este procedimiento se realizó de igual forma con los profármacos **13b** y **13c**.

- ❖ Las cantidades empleadas para obtener al CI **14b** fueron 78.3 mg de β -CD (0.0690 mmol, 1 eq) y 42.5 mg de **13b** (0.0690 mmol, 1 eq).
- ❖ Por otra parte, se emplearon 65.8 mg de β -CD (0.058 mmol, 1 eq) y 41.8 mg del profármaco **13c**. para así obtener al CI **14c** de igual forma en proporciones cuantitativas.

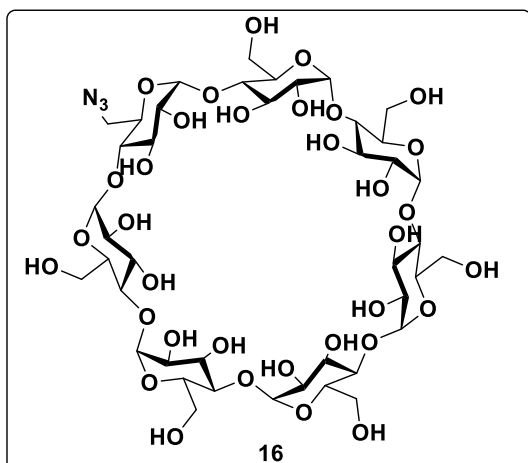
Preparación de la mono-tosil- β -CD **15**.



En un vaso de precipitado de 250 mL provisto de un agitador magnético se añadieron 2.875 g (2.5330 mmol) de β -CD, se añadieron 50 mL de agua destilada hasta obtener una dispersión, posteriormente, se añadieron 1.240 g (3.7995 mmol, 1.5 eq) de Ts_2O y 13 mL adicionales de agua destilada hasta dispersar la mezcla de reacción la cual dejó en agitación durante 2 horas. Transcurrido este tiempo se añadieron 12.5 mL de una solución de NaOH al 10 % y de

dejó 10 minutos más en agitación. Posteriormente, se filtró en vacío. La mezcla resultante se enfrió a 0 °C y se llevó a pH = 8 con NH_4Cl . Se dejó en reposo durante 12 horas y posteriormente se realizó una decantación de la mezcla resultante, se realizaron recristalizaciones con una mezcla acetona: agua (90:10) para su purificación. Este procedimiento se realizó 4 veces hasta obtener un polvo blanco con un rendimiento químico del 51 % (718 mg, 0.5569 mmol). ^1H NMR (500 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) δ 7.75 (d, J = 8.2 Hz, 2H, H-2'', H-6''), 7.43 (d, J = 8.1 Hz, 2H, H-3'', H-5''), 5.82 (d, J = 6.3 Hz, 1H, H-1'), 5.71 (m, 6H, H-1'), 4.84 (dd, J = 3.8, 3.8 Hz, 6H, H-3), 4.76 (dd, 1H, H-3'), 4.48 (td, J = 5.8, 2.6 Hz, 6H, H-5), 4.39 – 4.31 (m, 1H, H-6'), 4.19 (dd, J = 11.2, 6.5 Hz, 1H, H-5'), 3.64 (d, J = 7.2 Hz, 12H, H-6), 3.59 (d, J = 8.8 Hz, 6H, H-2), 3.44 (d, J = 8.7 Hz, 1H, H-2'), 3.29 (dd, J = 9.8, 3.6 Hz, 6H, H-4), 3.21 (s, 1H, H-4'), 2.43 (s, 3H, CH_3). ^{13}C NMR (126 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) δ 144.81 (C-4''), 132.68 (C-1''), 129.90 (C-3'', C-5''), 127.59 (C-2'', C-6''), 102.25 (C-1'), 101.90 (C-1), 101.29 (C-1), 81.91 – 80.99 (C-4), 80.78 (C-4'), 73.07 (C-2') 72.96– 71.74 (C-2, C-3', C-3, C-5', C-5), 68.81 (C-6') 60.03–58.93 (C-6), 21.21 (C- CH_3).

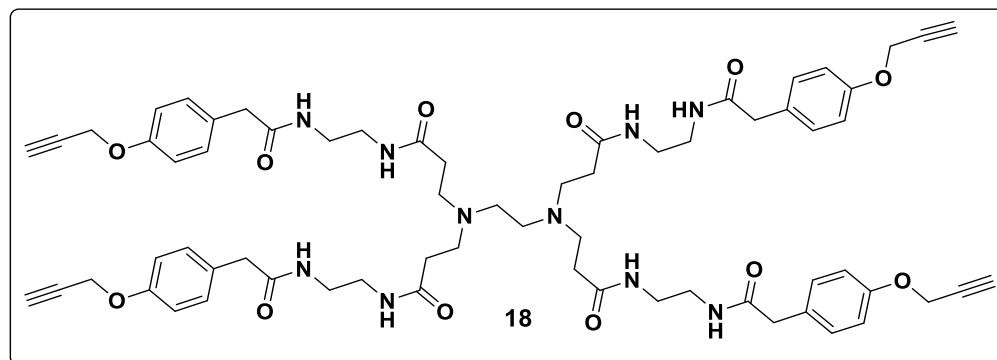
Preparación de la mono-azido-β-CD **16**.



A un matraz bola de 25 mL con agitador magnético se le añadieron 538 mg de la mono-tosil-β-CD **15** (0.4173 mmol) y 81.3 mg de NaN₃ (1.2519 mmol, 3 eq), posteriormente el matraz se selló y se purgó con atmósfera de Argón durante 10 minutos para añadirle 5 mL de DMF anhidra y se colocó en una manta de calentamiento a 80 °C, se dejó en agitación y atmósfera de Argón durante 48 horas. Transcurrido el tiempo, se preparó un baño de acetona fría en un vaso de precipitados de 100 mL y se le añadió el crudo de reacción gota a

gota, posteriormente se filtró al vacío la mezcla resultante. El sólido recuperado se suspendió en 2 mL de agua y se recrystalizó con un exceso de acetonas (50 mL). Este procedimiento se realizó por triplicado para obtener el compuesto con un rendimiento químico del 80 % (0.377 g, 0.325 mmol) como un polvo blanco. ¹H NMR (500 MHz, DMSO-*d*₆) δ 5.75 – 5.70 (m, 6H, H-1), 5.61 (d, *J* = 2.4 Hz, 1H, H-H1'), 4.87 (m, 1H, H-3'), 4.82 (m, 6H, H-3), 4.57 – 4.53 (m, 1H, H-5'), 4.52 – 4.40 (m, 6H, h-5), 3.80 – 3.71 (m, 2H, H-6'), 3.68 – 3.53 (m, 12H, H-6), 3.41 (m, 1H, H-2'), 3.37 (ddd, *J* = 9.3, 6.1, 2.5 Hz, 6H, H-2), 3.32 – 3.27 (m, 7H, H-4, H-4'). ¹³C NMR (126 MHz, DMSO-*d*₆) δ 102.29 (C-1'), 102.16 – 101.76 (C-1), 101.60 (C-1), 82.99 (C-4'), 82.13 – 81.08 (C-4), 73.37 – 71.73 (C-2, C-2', C-3, C-3', C-5, C-5'), 70.19 (C-2), 60.47-59.41 (C-6), 51.10 (C-6').

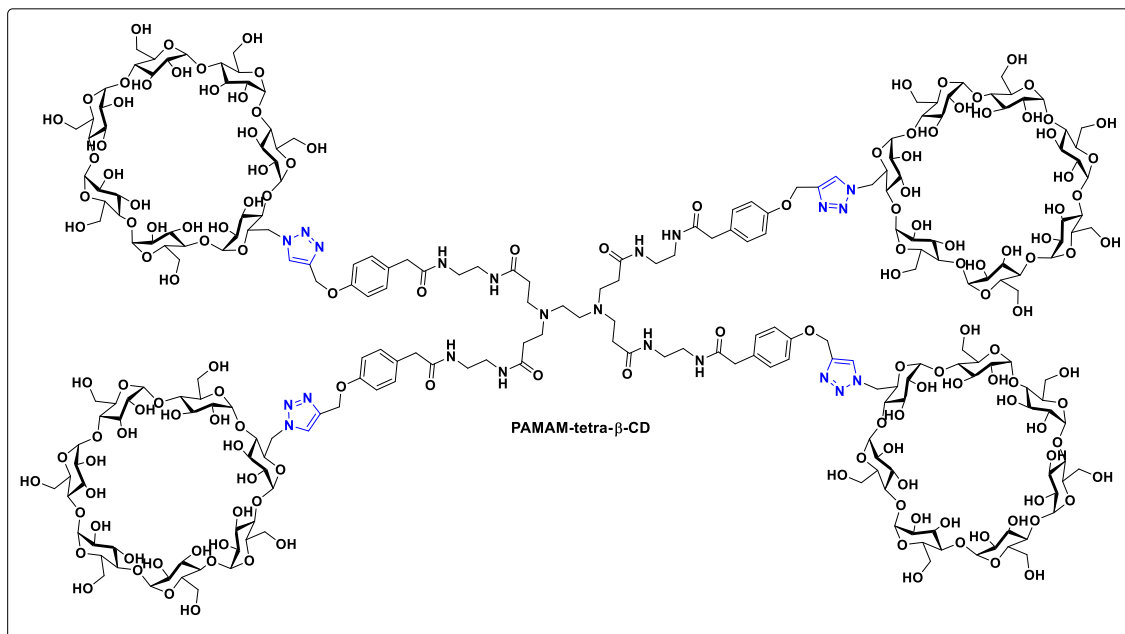
Síntesis del PAMAM-tetra-alquino terminal **18**.



En un matraz bola de 100 mL provisto de un agitador magnético se añadieron 515 mg (2.7 mmol, 5.6 eq respecto al PAMAM G=0) del compuesto **16**, 727 mg (3.79 mmol, 1.4 eq respecto al compuesto **16**) de EDC·HCl y 366 mg (2.7 mmol, 1 equivalente respecto al compuesto **16**) de HOBT, el matraz se selló y se purgó con atmósfera de Argón durante 10 minutos y se le añadieron 14 mL de DMF anhidra. Y se dejó en agitación durante 4 horas a temperatura ambiente. Posteriormente, se añadió gota a gota una solución del dendrímero

PAMAM G0 (250 mg, 0.483 mmol) en DMF (2 mL), la mezcla resultante se mantuvo en agitación, atmósfera de Argón y a 35 °C durante 3 días. El disolvente se evaporó al vacío. El crudo de reacción se recrystalizó con metanol para así obtener al PAMAM-tetra-alquino terminal como un polvo blanco y un rendimiento químico del 98% (571 mg, 0.4488 mmol). ^1H NMR (500 MHz, DMSO- d_6) δ 8.06 – 7.92 (m, 8H, NH), 7.20 – 7.12 (m, 8H, H-2', H-6'), 6.93 – 6.85 (m, 8H, H-3', H-5'), 4.74 (d, J = 2.4 Hz, 8H, H-1'), 3.53 (t, J = 2.4 Hz, 4H, H-3''), 3.31 (s, 8H, H-8), 3.10 – 3.04 (m, 16H, H-6, H-5), 2.68 – 2.60 (m, 8H, H-3), 2.44 (s, 4H, H-1), 2.19 (t, J = 7.1 Hz, 8H, H-2). ^{13}C NMR (126 MHz, DMSO- d_6) δ 171.49 (C-4), 170.56 (C-7), 155.80 (C-4'), 129.95 (C-6', C-2'), 129.03 (C-1'), 114.57 (C-3', C-5'), 79.37 (C-2''), 78.08 (C-3''), 55.33 (C-1''), 50.78 (C-1), 49.57 (C-2), 41.46 (C-8), 38.47 (C-6), 38.27 (C-5), 33.10 (C-3).

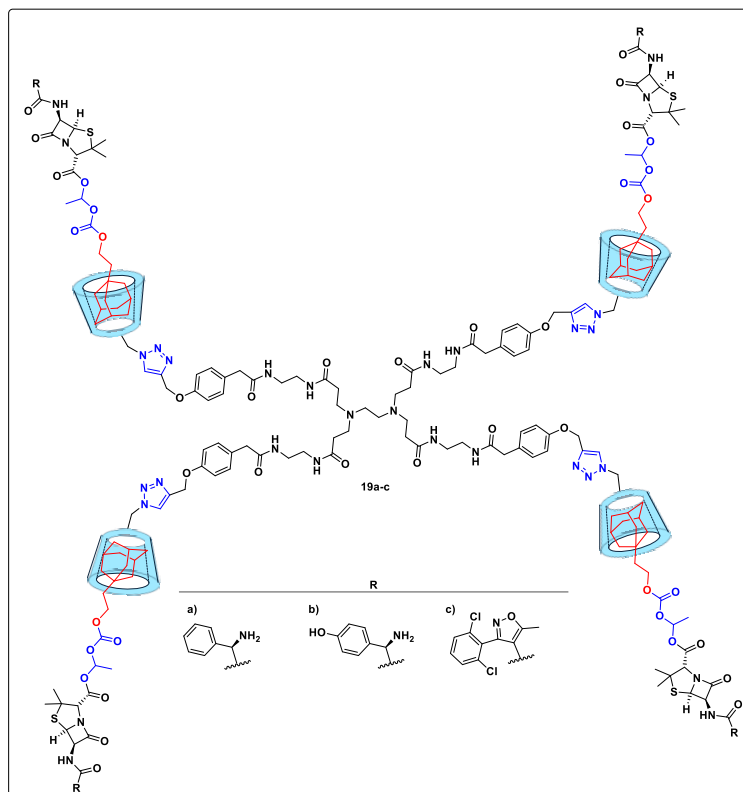
Síntesis del PAMAM-tetra- β -CD **18**.



En un matraz bola de 50 mL se añadieron 188 mg del PAMAM-tetra-alquino **18** (0.1567 mmol) y 800 mg de la mono-azido- β -CD **17** (0.6896 mmol, 4.4 eq), el matraz se selló y se purgó con atmósfera de Argón y se le añadieron 5 mL de DMSO anhidro y se volvió a purgar nuevamente con atmósfera de Argón. Posteriormente, se colocó el matraz en una manta de calentamiento a 80 °C. Por otra parte, en un vial pequeño se añadieron 36 mg de ascorbato sódico (0.2068 mmol, 1.32 eq respecto a **18**) y 12.9 mg de $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ (0.517 mmol, 0.33 eq respecto a **18**), posteriormente se añadieron 0.5 mL de H_2O desionizada, se mezcló completamente y se añadió gota a gota mediante una jeringa al matraz y se mantuvo agitación y temperatura durante 3 días. El disolvente se evaporó en vacío y la mezcla resultante se le añadió acetona fría, se filtró y se realizaron recrystalizaciones con acetona. El sólido resultante se disolvió en agua destilada para su purificación mediante columna de exclusión molecular. Las fracciones colectadas fueron sometidas a un proceso de liofilización para

obtener el dendrímero PAMAM-tetra- β -CD como un polvo blanco con un rendimiento químico del 90 % (820 mg, 1402 mmol). ^1H NMR (500 MHz, $\text{DMSO-}d_6$) δ 8.14 (s, 4H, H-9'), 8.09 – 7.96 (m, 8H, N-H), 7.16 (d, $J = 8.2$ Hz, 8H, H-2', H-6'), 6.95 (d, $J = 8.2$ Hz, 8H, H-3', H-5'), 5.87 (s, 8H, H-7'), 5.70 (s, 24H, H-1'''), 5.63 – 5.61 (m, 4H, H-1''), 4.88 – 4.87 (m, 4H, H-3''), 4.83 (s, 24H, H-3'''), 4.77 (s, 4H, H-5''), 4.45 (s, 24H, H-5'''), 4.29 (s, 4H, H-6''), 3.99 (s, 4H, H-6'''), 3.77 – 3.75 (m, 4H, H-2''), 3.68 – 3.64 (m, 48H, H-6'''), 3.63 – 3.62 (m, 24H, H-2'''), 3.56 – 3.53 (m, 28H, H-4'', H-4'''), 3.42 (s, 8H, H-8), 3.08 (s, 16H, H-6, H-5), 2.95 – 2.88 (m, 4H, H-1), 2.43 (s, 8H, H-3), 2.21 (s, 8H, H-2). ^{13}C NMR (126 MHz, $\text{DMSO-}d_6$) δ 171.49 (C-4), 170.70 (C-7), 156.78 (C-4'), 142.56 (C-9'), 130.04 (C-6', C-2'), 128.54 (C-1'), 125.49 (C-8'), 114.42 (C-3', C-5'), 101.95 (C-1'', C-1'''), 82.99 (C-4''), 81.87 (C-4'''), 73.05 - 72.04 (C-2'', C-2''', C-3'', C-3''', C-5'', C-5'''), 69.96 (C-6''), 60.94 - 59.92 (C-6'', C-6'''), 59.04 (C-7') 51.10 (C-1), 50.35 (C-2), 41.47 (C-8) 38.49 (C-6), 38.30 (C-5), 32.94 (C-3).

Método general para la preparación de los CIs **19a-c**.



En un vial de 5 mL con agitador magnético, se añadieron 40 mg del dendrímero PAMAM-tetra- β -CD (6.8429×10^{-3} mmol) y se añadieron 2 mL de agua desionizada. En otro vial, se disolvieron 16.4 mg del profármaco **13a** (0.0273 mmol, 4 eq) en 0.7 mL de MeOH. Una vez disuelto el profármaco se añadió gota a gota a la solución del dendrímero y se dejó en agitación toda la noche. Posteriormente, la mezcla resultante fue sometida a un proceso de liofilización para obtener el CI **19a** de forma cuantitativa (56 mg). Este procedimiento se realizó de

igual forma en la preparación de los CIs **19b** y **19c**.

- ❖ Las cantidades empleadas para preparar el CI **19b** fueron 50 mg del dendrímero PAMAM-tetra- β -CD (8.5537×10^{-3} mmol, 1 eq) y 21.5 mg del profármaco **13b** (0.0350 mmol, 4 eq).
- ❖ En contraste, para la preparación del CI **19c** se emplearon 30 mg del PAMAM-tetra- β -CD (5.1322×10^{-3} mmol, 4 eq) y 15.1 mg del profármaco **13c** (0.0210 mmol, 4 eq).

BIBLIOGRAFÍA

- (1) Willems, R. J. L.; Hanage, W. P.; Bessen, D. E.; Feil, E. J. Population Biology of Gram-Positive Pathogens: High-Risk Clones for Dissemination of Antibiotic Resistance. *FEMS Microbiol Rev* **2011**, 35 (5), 872–900. <https://doi.org/10.1111/j.1574-6976.2011.00284.x>.
- (2) Fisher, J. F.; Mobashery, S. β -Lactam Resistance Mechanisms: Gram-Positive Bacteria and *Mycobacterium Tuberculosis*. *Cold Spring Harb Perspect Med* **2016**, 6 (5), a025221. <https://doi.org/10.1101/cshperspect.a025221>.
- (3) Poole, K. Resistance to β -Lactam Antibiotics. *CMLS, Cell. Mol. Life Sci.* **2004**, 61 (17). <https://doi.org/10.1007/s00018-004-4060-9>.
- (4) Salimiyan Rizi, K.; Ghazvini, K.; Noghondar, M. K. Adaptive Antibiotic Resistance: Overview and Perspectives. *J Infect Dis Ther* **2018**, 06 (03). <https://doi.org/10.4172/2332-0877.1000363>.
- (5) Jendrzewska, N.; Karwowska, E. Bacterial Resistance to β -Lactam Antibiotics in Municipal Wastewater: Insights from a Full-Scale Treatment Plant in Poland. *Microorganisms* **2022**, 10 (12), 2323. <https://doi.org/10.3390/microorganisms10122323>.
- (6) Anderson, J. R.; Lam, N. B.; Jackson, J. L.; Dorenkott, S. M.; Ticer, T.; Maldosevic, E.; Velez, A.; Camden, M. R.; Ellis, T. N. Progressive Sub-MIC Exposure of *Klebsiella Pneumoniae* 43816 to Cephalothin Induces the Evolution of Beta-Lactam Resistance without Acquisition of Beta-Lactamase Genes. *Antibiotics* **2023**, 12 (5), 887. <https://doi.org/10.3390/antibiotics12050887>.
- (7) Shlaes, D. M. Factors That Influence the Evolution of β -Lactam Resistance in β -Lactamase- Inducible Strains of *Enterobacter Cloacae* and *Pseudomonas Aeruginosa*.
- (8) Auta, A.; Hadi, M. A.; Oga, E.; Adewuyi, E. O.; Abdu-Aguye, S. N.; Adeloye, D.; Strickland-Hodge, B.; Morgan, D. J. Global Access to Antibiotics without Prescription in Community Pharmacies: A Systematic Review and Meta-Analysis. *Journal of Infection* **2019**, 78 (1), 8–18. <https://doi.org/10.1016/j.jinf.2018.07.001>.
- (9) Narendrakumar, L.; Chakraborty, M.; Kumari, S.; Paul, D.; Das, B. β -Lactam Potentiators to Re-Sensitize Resistant Pathogens: Discovery, Development, Clinical Use and the Way Forward. *Front. Microbiol.* **2023**, 13, 1092556. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2022.1092556>.
- (10) Bozcal, E.; Dagdeviren, M. Toxicity of β -Lactam Antibiotics: Pathophysiology, Molecular Biology and Possible Recovery Strategies. In *Poisoning - From Specific Toxic Agents to Novel Rapid and Simplified Techniques for Analysis*; Malangu, N., Ed.; InTech, 2017. <https://doi.org/10.5772/intechopen.70199>.
- (11) Sb, G.; Aa, M.; Hb, L.; A, M.; Si, I.; M, A. Chemistry, Mode of Action, Bacterial Resistance, Classification and Adverse Effects of Beta-Lactam Antibiotics: A Review. *Int. J. Dermatol. Res.* **2023**, 5 (1), 11–16. <https://doi.org/10.33545/26646471.2023.v5.i1a.37>.
- (12) Jacobs, L. M. C.; Consol, P.; Chen, Y. Drug Discovery in the Field of β -Lactams: An Academic Perspective. *Antibiotics* **2024**, 13 (1), 59. <https://doi.org/10.3390/antibiotics13010059>.
- (13) Fisher, J. F.; Mobashery, S. Constructing and Deconstructing the Bacterial Cell Wall. *Protein Science* **2020**, 29 (3), 629–646. <https://doi.org/10.1002/pro.3737>.
- (14) Suárez, C.; Gudíol, F. Antibióticos betalactámicos. *Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica* **2009**, 27 (2), 116–129.

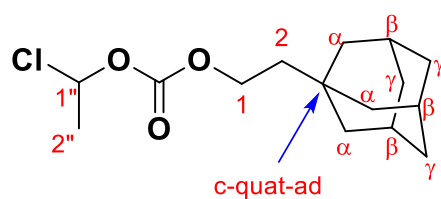
- <https://doi.org/10.1016/j.eimc.2008.12.001>.
- (15) Eckburg, P. B.; Lister, T.; Walpole, S.; Keutzer, T.; Utley, L.; Tomayko, J.; Kopp, E.; Farinola, N.; Coleman, S. Safety, Tolerability, Pharmacokinetics, and Drug Interaction Potential of SPR741, an Intravenous Potentiator, after Single and Multiple Ascending Doses and When Combined with β -Lactam Antibiotics in Healthy Subjects. *Antimicrob Agents Chemother* **2019**, *63* (9), e00892-19. <https://doi.org/10.1128/AAC.00892-19>.
 - (16) Hajnal, K.; Gabriel, H.; Aura, R.; Erzsébet, V.; Blanka, S. S. Prodrug Strategy in Drug Development. *Acta Medica Marisiensis* **2016**, *62* (3), 356–362. <https://doi.org/10.1515/amma-2016-0032>.
 - (17) Boreski, D.; Schmid, V. F.; Bosquesi, P. L.; Dos Santos, J. L.; Scarim, C. B.; Reshetnikov, V.; Chin, C. M. Current Trends in Clinical Trials of Prodrugs. *Medicine and Pharmacology* January 21, 2025. <https://doi.org/10.20944/preprints202501.1593.v1>.
 - (18) Van Boeckel, T. P.; Gandra, S.; Ashok, A.; Caudron, Q.; Grenfell, B. T.; Levin, S. A.; Laxminarayan, R. Global Antibiotic Consumption 2000 to 2010: An Analysis of National Pharmaceutical Sales Data. *The Lancet Infectious Diseases* **2014**, *14* (8), 742–750. [https://doi.org/10.1016/S1473-3099\(14\)70780-7](https://doi.org/10.1016/S1473-3099(14)70780-7).
 - (19) Redasani, V. K.; Bari, S. B. Types of Prodrugs. In *Prodrug Design*; Elsevier, 2015; pp 21–31. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-803519-1.00003-9>.
 - (20) Almansour, M. A.; Aldosary, M. S.; Almegbel, M. T.; Alsubaie, S. A.; Alzahrani, A. M. Recent Innovations in Oral Drug Delivery Systems: Examining Current Challenges and Future Opportunities for Enhanced Therapeutic Efficacy. *Int. J. of Health Sci.* **2023**, *7* (S1), 3352–3370. <https://doi.org/10.53730/ijhs.v7nS1.15041>.
 - (21) Friedel, H. A.; Campoli-Richards, D. M.; Goa, K. L. Sultamicillin: A Review of Its Antibacterial Activity, Pharmacokinetic Properties and Therapeutic Use. *Drugs* **1989**, *37* (4), 491–522. <https://doi.org/10.2165/00003495-198937040-00005>.
 - (22) Stella, V. J.; Nti-Addae, K. W. Prodrug Strategies to Overcome Poor Water Solubility. *Advanced Drug Delivery Reviews* **2007**, *59* (7), 677–694. <https://doi.org/10.1016/j.addr.2007.05.013>.
 - (23) Teitelbaum, A. M.; Meissner, A.; Harding, R. A.; Wong, C. A.; Aldrich, C. C.; Remmel, R. P. Synthesis, pH-Dependent, and Plasma Stability of Meropenem Prodrugs for Potential Use against Drug-Resistant Tuberculosis. *Bioorganic & Medicinal Chemistry* **2013**, *21* (17), 5605–5617. <https://doi.org/10.1016/j.bmc.2013.05.024>.
 - (24) Di, L. The Impact of Carboxylesterases in Drug Metabolism and Pharmacokinetics. *CDM* **2019**, *20* (2), 91–102. <https://doi.org/10.2174/1389200219666180821094502>.
 - (25) Ezike, T. C.; Okpala, U. S.; Onoja, U. L.; Nwike, C. P.; Ezeako, E. C.; Okpara, O. J.; Okoroafor, C. C.; Eze, S. C.; Kalu, O. L.; Odoh, E. C.; Nwadike, U. G.; Ogbodo, J. O.; Umeh, B. U.; Ossai, E. C.; Nwanguma, B. C. Advances in Drug Delivery Systems, Challenges and Future Directions. *Heliyon* **2023**, *9* (6), e17488. <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2023.e17488>.
 - (26) Zhang, C.; Yan, L.; Wang, X.; Zhu, S.; Chen, C.; Gu, Z.; Zhao, Y. Progress, Challenges, and Future of Nanomedicine. *Nano Today* **2020**, *35*, 101008. <https://doi.org/10.1016/j.nantod.2020.101008>.
 - (27) Xie, X. Application of Nanomedicine in Diagnostic Technology. **2023**, *40*.
 - (28) Siegel, R. A.; Rathbone, M. J. Overview of Controlled Release Mechanisms. In *Fundamentals and Applications of Controlled Release Drug Delivery*; Siepmann, J., Siegel, R. A., Rathbone, M. J., Eds.; Springer US: Boston, MA, 2012; pp 19–43.

- https://doi.org/10.1007/978-1-4614-0881-9_2.
- (29) Torchilin, V. P. Passive and Active Drug Targeting: Drug Delivery to Tumors as an Example. In *Drug Delivery*; Schäfer-Korting, M., Ed.; Handbook of Experimental Pharmacology; Springer Berlin Heidelberg: Berlin, Heidelberg, 2010; Vol. 197, pp 3–53. https://doi.org/10.1007/978-3-642-00477-3_1.
 - (30) Boas, U.; Heegaard, P. M. H. Dendrimers in Drug Research. *Chem. Soc. Rev.* **2004**, 33 (1), 43. <https://doi.org/10.1039/b309043b>.
 - (31) Chauhan, A. S. Dendrimers for Drug Delivery. *Molecules* **2018**, 23 (4), 938. <https://doi.org/10.3390/molecules23040938>.
 - (32) Hawker, C. J.; Frechet, J. M. J. Preparation of Polymers with Controlled Molecular Architecture. A New Convergent Approach to Dendritic Macromolecules. *J. Am. Chem. Soc.* **1990**, 112 (21), 7638–7647. <https://doi.org/10.1021/ja00177a027>.
 - (33) Malik, M. A.; Imran, M.; Adeel, M. On Distance-Based Topological Indices and Co-Indices of Fractal-Type Molecular Graphs and Their Respective Graph Entropies. *PLoS ONE* **2023**, 18 (11), e0290047. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0290047>.
 - (34) Wiesler, U.-M.; Berresheim, A. J.; Morgenroth, F.; Lieser, G.; Müllen, K. Divergent Synthesis of Polyphenylene Dendrimers: The Role of Core and Branching Reagents upon Size and Shape. *Macromolecules* **2001**, 34 (2), 187–199. <https://doi.org/10.1021/ma991519m>.
 - (35) Menjoge, A. R.; Kannan, R. M.; Tomalia, D. A. Dendrimer-Based Drug and Imaging Conjugates: Design Considerations for Nanomedical Applications. *Drug Discovery Today* **2010**, 15 (5–6), 171–185. <https://doi.org/10.1016/j.drudis.2010.01.009>.
 - (36) Potential of Dendrimers as Oral Drug Delivery Carriers. *J App Pharm Sci* **2018**, 8 (7), 149–153. <https://doi.org/10.7324/JAPS.2018.8723>.
 - (37) Huang, Y.; Kang, Q. Synthesis of Conjugates of β -Cyclodextrin with Polyamidoamine Dendrimers and Their Molecular Inclusion Interaction with Levofloxacin Lactate. *J Incl Phenom Macrocycl Chem* **2012**, 72 (1–2), 55–61. <https://doi.org/10.1007/s10847-011-9938-1>.
 - (38) Kolhe, P. Drug Complexation, in Vitro Release and Cellular Entry of Dendrimers and Hyperbranched Polymers. *International Journal of Pharmaceutics* **2003**, 259 (1–2), 143–160. [https://doi.org/10.1016/S0378-5173\(03\)00225-4](https://doi.org/10.1016/S0378-5173(03)00225-4).
 - (39) Luong, D.; Kesharwani, P.; Deshmukh, R.; Mohd Amin, M. C. I.; Gupta, U.; Greish, K.; Iyer, A. K. PEGylated PAMAM Dendrimers: Enhancing Efficacy and Mitigating Toxicity for Effective Anticancer Drug and Gene Delivery. *Acta Biomaterialia* **2016**, 43, 14–29. <https://doi.org/10.1016/j.actbio.2016.07.015>.
 - (40) Caminade, A.-M.; Turrin, C.-O. Dendrimers for Drug Delivery. *J. Mater. Chem. B* **2014**, 2 (26), 4055–4066. <https://doi.org/10.1039/C4TB00171K>.
 - (41) Przybyla, M. A.; Yilmaz, G.; Becer, C. R. Natural Cyclodextrins and Their Derivatives for Polymer Synthesis. *Polym. Chem.* **2020**, 11 (48), 7582–7602. <https://doi.org/10.1039/D0PY01464H>.
 - (42) Namazi, H.; Kanani, A. Synthesis of New Prodrugs Based on β -CD as the Natural Compounds Containing β -Lactam Antibiotics. *Journal of Bioactive and Compatible Polymers* **2007**, 22 (1), 77–88. <https://doi.org/10.1177/0883911507073362>.
 - (43) Xu, W.; Li, X.; Wang, L.; Li, S.; Chu, S.; Wang, J.; Li, Y.; Hou, J.; Luo, Q.; Liu, J. Design of Cyclodextrin-Based Functional Systems for Biomedical Applications. *Front. Chem.* **2021**, 9, 635507. <https://doi.org/10.3389/fchem.2021.635507>.
 - (44) Castiglione, F.; Ganazzoli, F.; Malpezzi, L.; Mele, A.; Panzeri, W.; Raffaini, G.

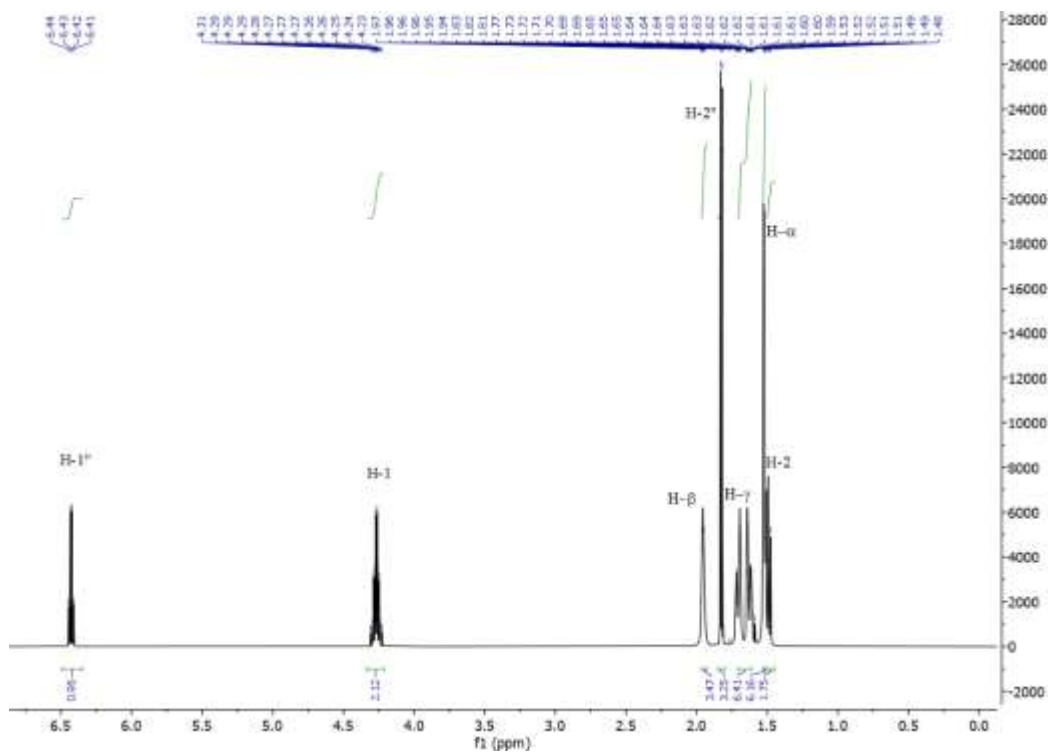
- Inclusion Complexes of β -Cyclodextrin with Tricyclic Drugs: An X-Ray Diffraction, NMR and Molecular Dynamics Study. *Beilstein J. Org. Chem.* **2017**, *13*, 714–719. <https://doi.org/10.3762/bjoc.13.70>.
- (45) Dalal, D. S.; Patil, D. R.; Tayade, Y. A. β -Cyclodextrin: A Green and Efficient Supramolecular Catalyst for Organic Transformations. *The Chemical Record* **2018**, *18* (11), 1560–1582. <https://doi.org/10.1002/tcr.201800016>.
- (46) Harries, D.; Rau, D. C.; Parsegian, V. A. Solutes Probe Hydration in Specific Association of Cyclodextrin and Adamantane. *J. Am. Chem. Soc.* **2005**, *127* (7), 2184–2190. <https://doi.org/10.1021/ja045541t>.
- (47) Granadero, D.; Bordello, J.; Pérez-Alvite, M. J.; Novo, M.; Al-Soufi, W. Host-Guest Complexation Studied by Fluorescence Correlation Spectroscopy: Adamantane–Cyclodextrin Inclusion. *IJMS* **2010**, *11* (1), 173–188. <https://doi.org/10.3390/ijms11010173>.
- (48) Béjaoui, I.; Baâzaoui, M.; Chevalier, Y.; Amdouni, N.; Kalfat, R.; Hbaieb, S. Influence of the Substitution of β -Cyclodextrins by Pyridinium Groups on the Complexation of Adamantane Derivatives. *J Incl Phenom Macrocycl Chem* **2016**, *86* (1–2), 79–92. <https://doi.org/10.1007/s10847-016-0643-y>.
- (49) González-Méndez, I.; Aguayo-Ortiz, R.; Sorroza-Martínez, K.; Solano, J. D.; Porcu, P.; Rivera, E.; Dominguez, L. Conformational Analysis by NMR and Molecular Dynamics of Adamantane-Doxorubicin Prodrugs and Their Assemblies with β -Cyclodextrin: A Focus on the Design of Platforms for Controlled Drug Delivery. *Bioorganic & Medicinal Chemistry* **2020**, *28* (13), 115510. <https://doi.org/10.1016/j.bmc.2020.115510>.
- (50) Díaz, D. D.; Finn, M. G.; Sharpless, K. B.; Fokin, V. V. Cicloadición 1,3-dipolar de azidas y alquinos. I: Principales aspectos sintéticos. *An. Quím.* **2008**, No. 1.
- (51) Devaraj, N. K.; Finn, M. G. Introduction: Click Chemistry. *Chem. Rev.* **2021**, *121* (12), 6697–6698. <https://doi.org/10.1021/acs.chemrev.1c00469>.
- (52) Geng, Z.; Shin, J. J.; Xi, Y.; Hawker, C. J. Click Chemistry Strategies for the Accelerated Synthesis of Functional Macromolecules. *Journal of Polymer Science* **2021**, *59* (11), 963–1042. <https://doi.org/10.1002/pol.20210126>.
- (53) González-Méndez, I.; Hameau, A.; Laurent, R.; Bijani, C.; Bourdon, V.; Caminade, A.; Rivera, E.; Moineau-Chane Ching, K. I. β -Cyclodextrin PAMAM Dendrimer: How to Overcome the Tumbling Process for Getting Fully Available Host Cavities. *Eur J Org Chem* **2020**, *2020* (9), 1114–1121. <https://doi.org/10.1002/ejoc.201901823>.
- (54) Sorroza-Martínez, K.; González-Sánchez, I.; Villamil-Ramos, R.; Cerbón, M.; Guerrero-Álvarez, J. A.; Coronel-Cruz, C.; Rivera, E.; González-Méndez, I. Using Poly (Amidoamine) PAMAM- β CD Dendrimer for Controlled and Prolonged Delivery of Doxorubicin as Alternative System for Cancer Treatment. *Pharmaceutics* **2024**, *16* (12), 1509. <https://doi.org/10.3390/pharmaceutics16121509>.
- (55) Yousef, T.; Hassan, N. Supramolecular Encapsulation of Doxorubicin with β -Cyclodextrin Dendrimer: In Vitro Evaluation of Controlled Release and Cytotoxicity. *J Incl Phenom Macrocycl Chem* **2017**, *87* (1–2), 105–115. <https://doi.org/10.1007/s10847-016-0682-4>.
- (56) Chien, S.-T.; Suydam, I. T.; Woodrow, K. A. Prodrug Approaches for the Development of a Long-Acting Drug Delivery Systems. *Advanced Drug Delivery Reviews* **2023**, *198*, 114860. <https://doi.org/10.1016/j.addr.2023.114860>.
- (57) Mastitski, A.; Abramov, A.; Krueve, A.; Järv, J. Potassium Iodide Catalysis in the

- Alkylation of Protected Hydrazines; Pp. 10–17. *PEAS* **2016**, 66 (1), 10–17. <https://doi.org/10.3176/proc.2017.1.03>.
- (58) Jensen, H. H.; Bols, M. Stereoelectronic Substituent Effects. *Acc. Chem. Res.* **2006**, 39 (4), 259–265. <https://doi.org/10.1021/ar050189p>.
- (59) Trader, D. J.; Carlson, E. E. Chemoselective Hydroxyl Group Transformation: An Elusive Target. *Molecular BioSystems* **2012**, 8 (10), 2484–2493. <https://doi.org/10.1039/C2MB25122A>.
- (60) Yew, J. Y. Natural Product Discovery by Direct Analysis in Real Time Mass Spectrometry. *Mass Spectrometry* **2019**, 8 (2), S0081–S0081. <https://doi.org/10.5702/massspectrometry.S0081>.
- (61) Liu, Z.; Sun, Z.; Zhang, G.; Zhu, J.; Mei, H.; Li, H.; Li, B.; Xu, J.; Zhou, H. Application of Spectra Accuracy for Analysis of Organic Explosive: 2,4,6-Trinitrotoluene by AccuTOF-DART. *J Forensic Sci Med* **2016**, 2 (4), 190. <https://doi.org/10.4103/2349-5014.197927>.
- (62) Gross, J. H. Direct Analysis in Real Time—a Critical Review on DART-MS. *Anal Bioanal Chem* **2014**, 406 (1), 63–80. <https://doi.org/10.1007/s00216-013-7316-0>.
- (63) Foti, C.; Giuffrè, O. Interaction of Ampicillin and Amoxicillin with Mn²⁺: A Speciation Study in Aqueous Solution. *Molecules* **2020**, 25 (14), 3110. <https://doi.org/10.3390/molecules25143110>.
- (64) Ensign, L. M.; Cone, R.; Hanes, J. Oral Drug Delivery with Polymeric Nanoparticles: The Gastrointestinal Mucus Barriers. *Advanced Drug Delivery Reviews* **2012**, 64 (6), 557–570. <https://doi.org/10.1016/j.addr.2011.12.009>.
- (65) Yoshida, T.; Lai, T. C.; Kwon, G. S.; Sako, K. pH- and Ion-Sensitive Polymers for Drug Delivery. *Expert Opinion on Drug Delivery* **2013**, 10 (11), 1497–1513. <https://doi.org/10.1517/17425247.2013.821978>.
- (66) Yahya, N. M.; AL-Dabbagh, S. G. Kinetic Study of the Hydrolysis of Synthesized Ibuprofen Ester and Its Biological Activity. *Baghdad Sci.J* **2025**, 10 (3), 1062–1070. <https://doi.org/10.21123/bsj.2013.10.3.1062-1070>.
- (67) Fassberg, J.; Stella, V.J. A Kinetic and Mechanistic Study of the Hydrolysis of Camptothecin and Some Analogues. *Journal of Pharmaceutical Sciences* **1992**, 81 (7), 676–684. <https://doi.org/10.1002/jps.2600810718>.

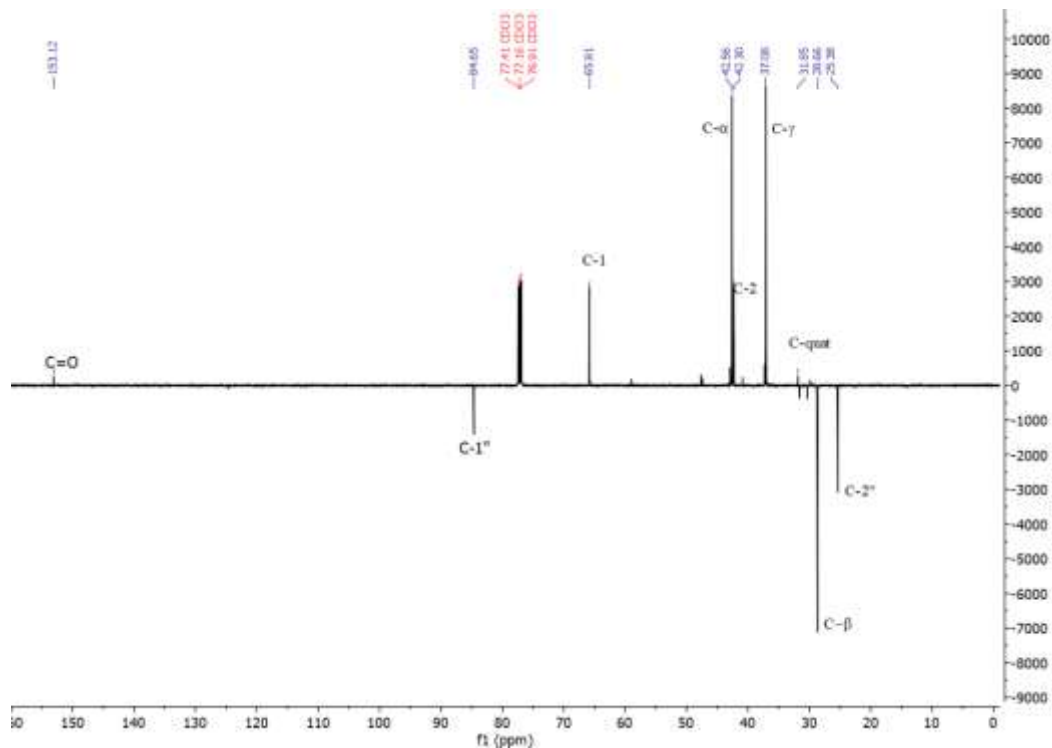
ANEXO



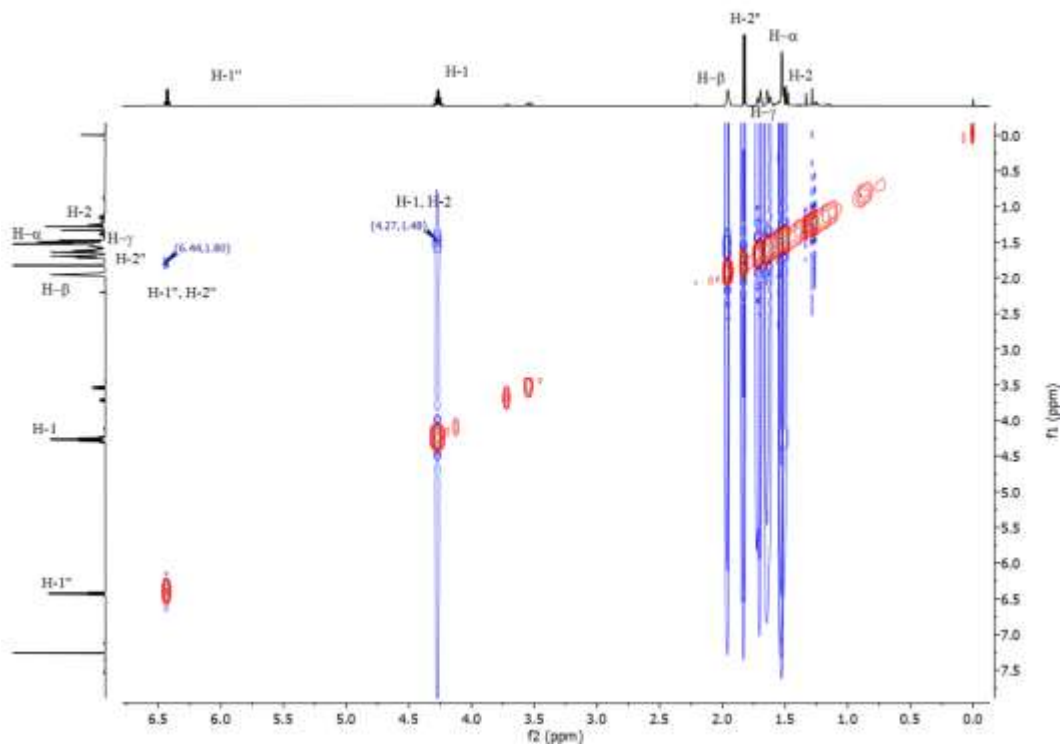
Asignación del carbonato de 2-adamantan-1-il-etilo (1-cloroetilo) **10**.



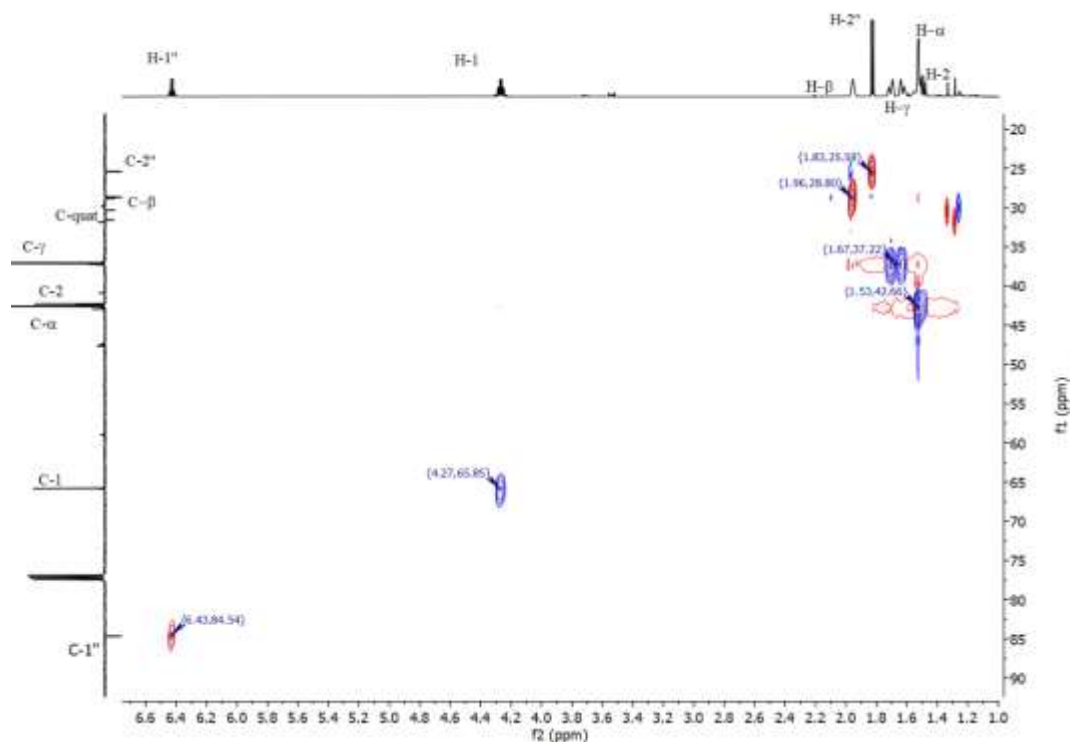
Espectro de ^1H de RMN (500 MHz, CDCl_3) del carbonato de 2-adamantan-1-il-etilo (1-cloroetilo) **10**.



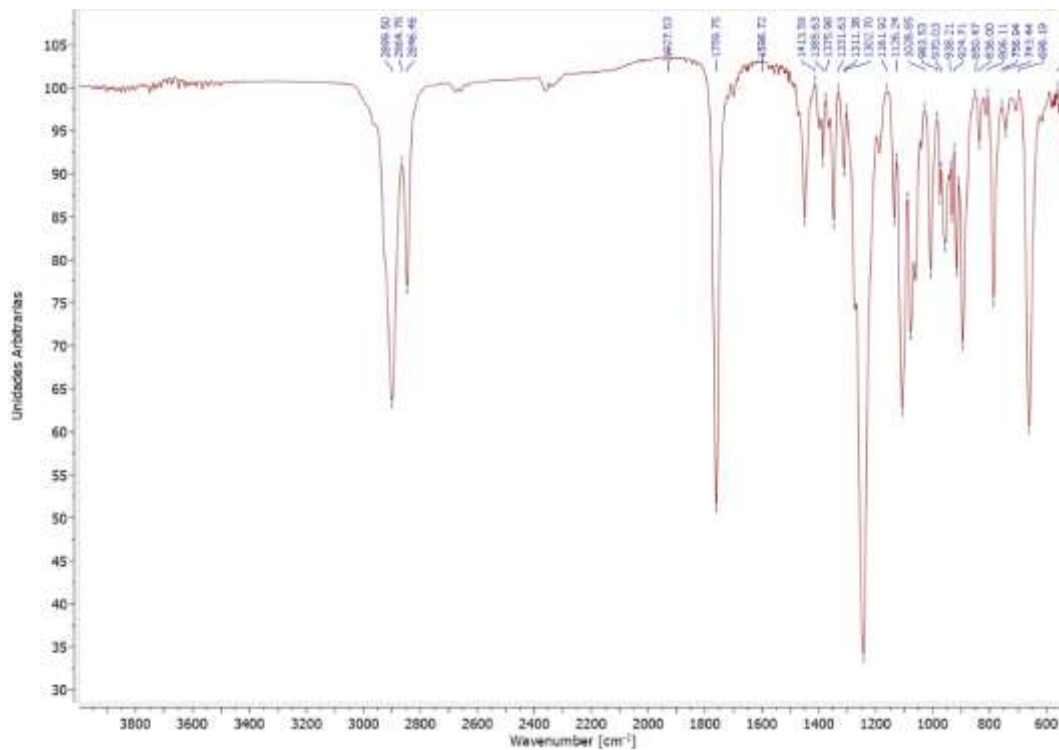
Espectro DEPTQ de RMN (126 MHz, CDCl_3) del carbonato de 2-adamantan-1-il-etilo (1-cloroetilo) **10**.



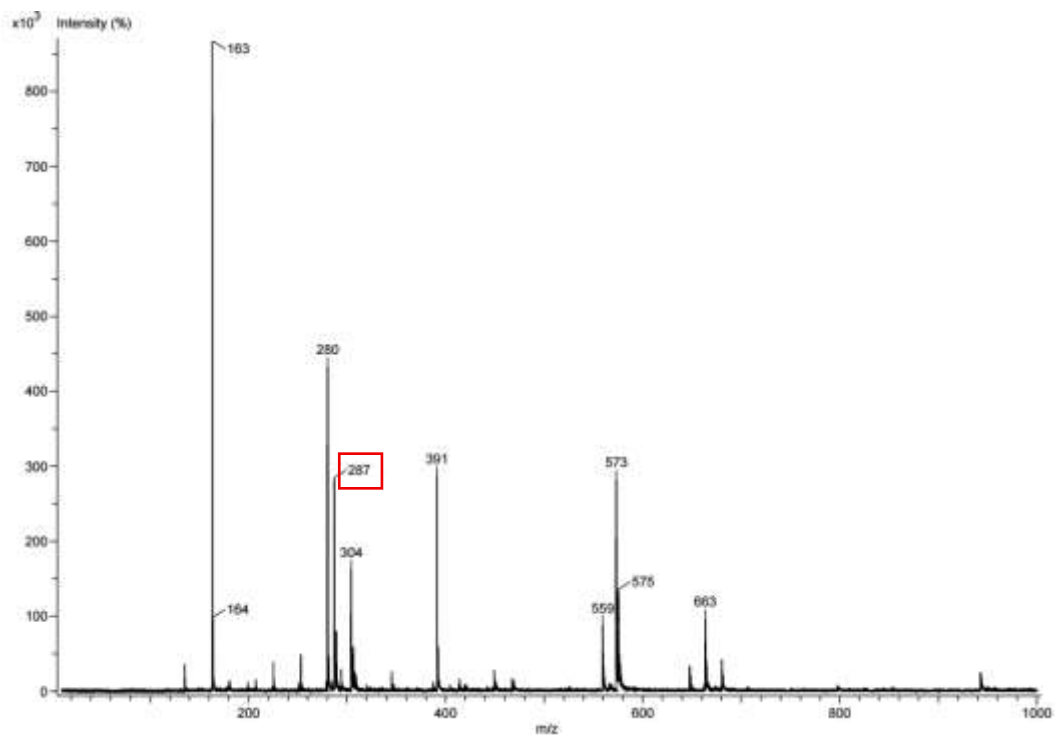
Espectro NOESY de RMN (500 MHz, CDCl_3) del carbonato de 2-adamantan-1-il-etilo (1-cloroetilo) **10**.



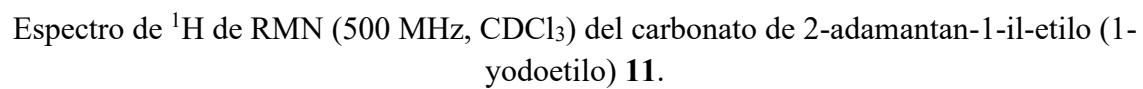
Espectro HSQC de RMN (500 MHz, CDCl_3) del carbonato de 2-adamantan-1-il-etilo (1-cloroetilo) **10**.

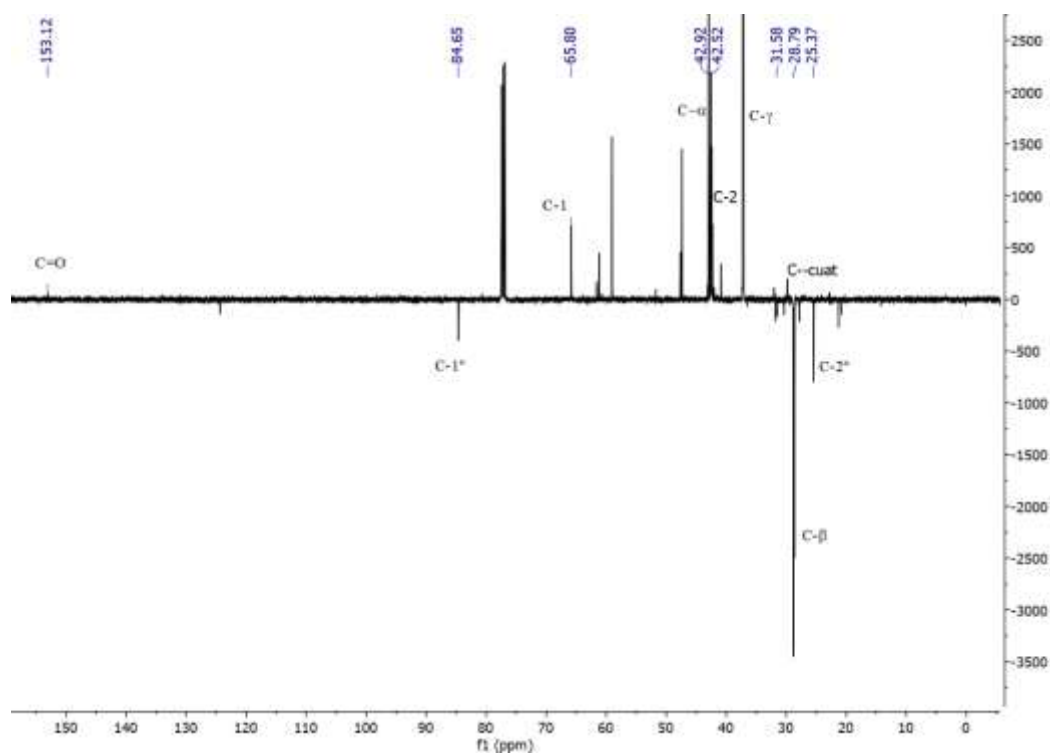


Espectro FTIR del carbonato de 2-adamantan-1-il-etilo (1-cloroetilo) **10**.

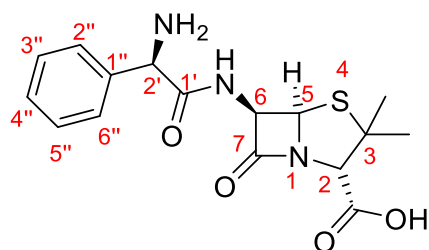


Espectro de LRMS DART⁺ carbonato de 2-adamantan-1-il-etilo (1-cloroetilo) **10**, resaltado en cuadro rojo [M + H].

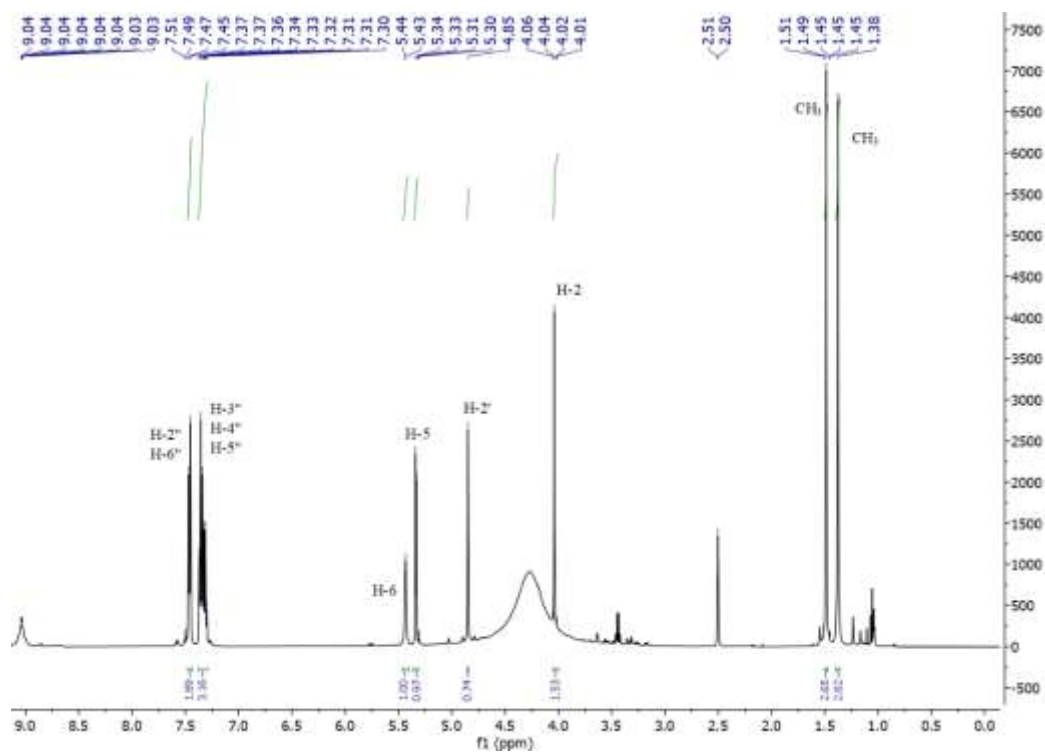




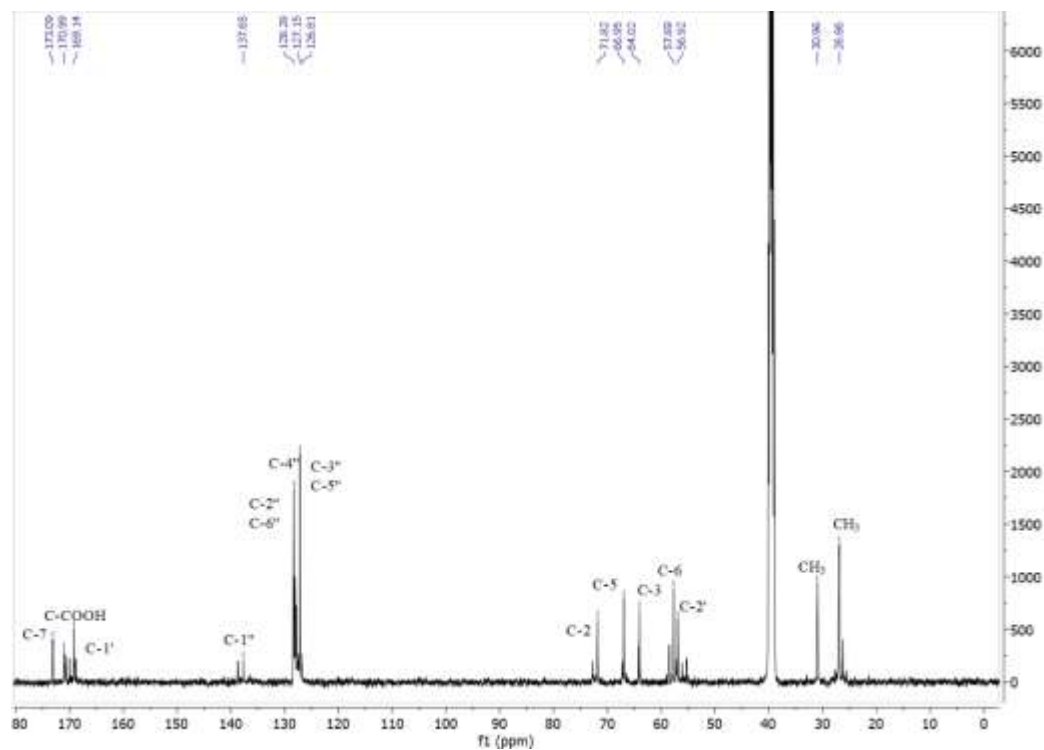
Espectro DEPTQ de RMN (126 MHz, CDCl₃) del carbonato de 2-adamantan-1-il-etilo (1-yodoetilo) **11**.



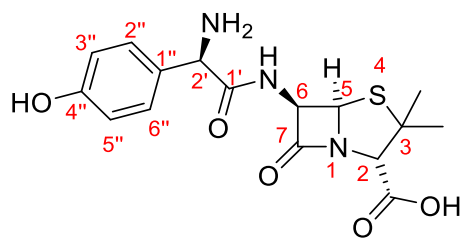
Asignación de la Ampicilina **12a**.



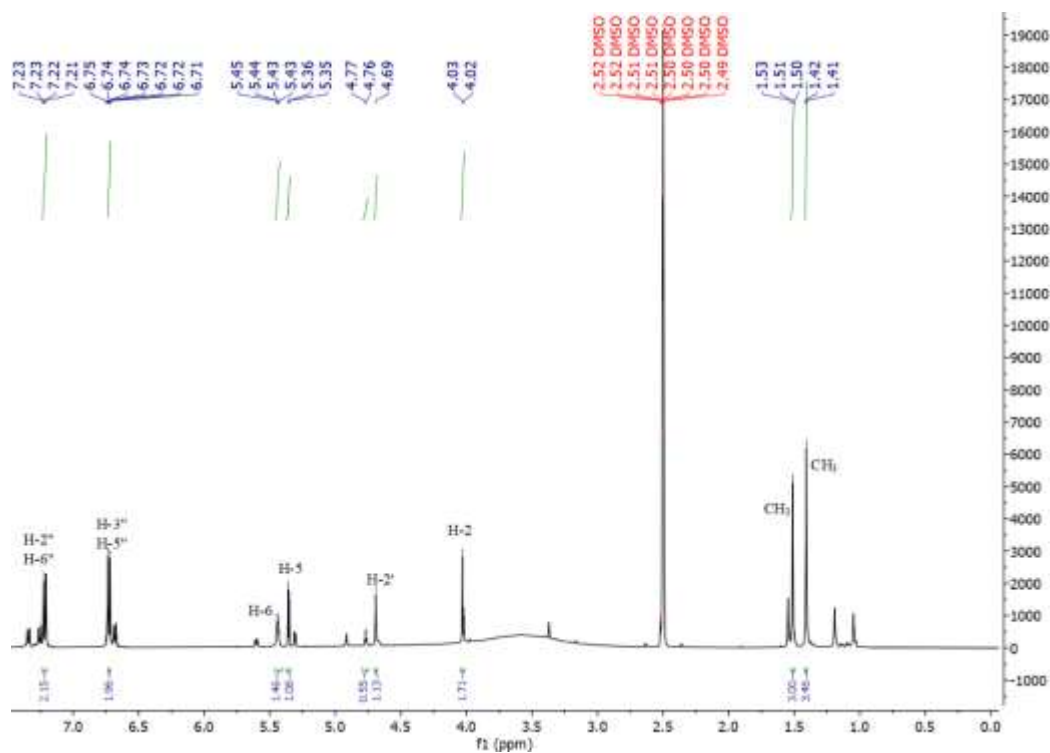
Espectro de ^1H de RMN (500 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) de la Ampicilina **12a**.



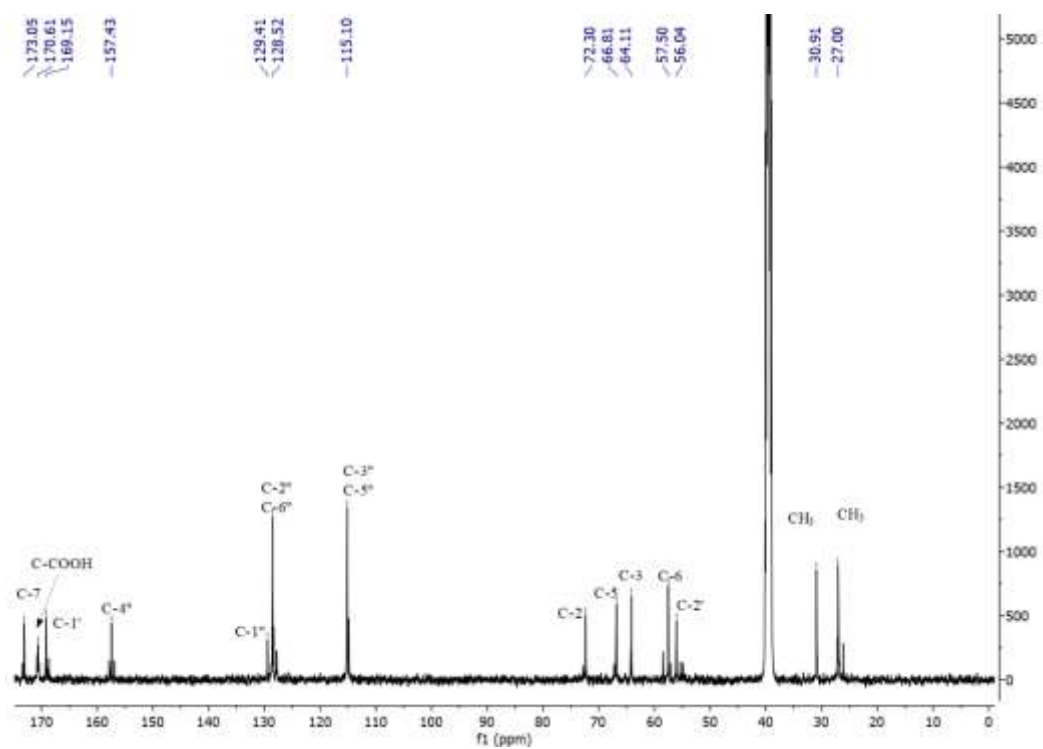
Espectro de ^{13}C de RMN (126 MHz, $\text{DMSO-}d_6$) de la Ampicilina **12a**.



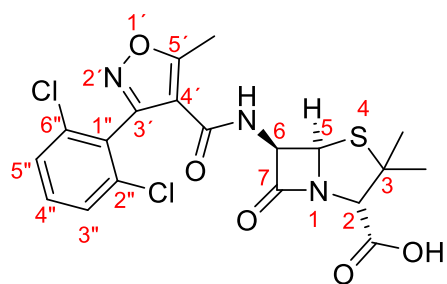
Asignación de la Amoxicilina **12b**.



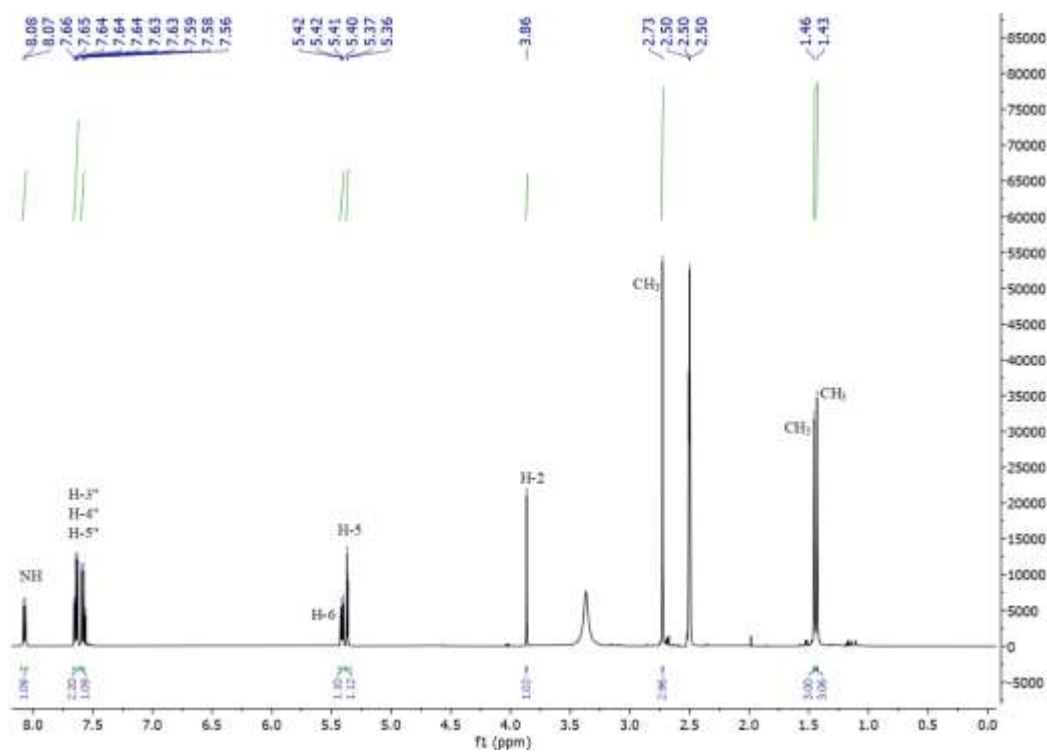
Espectro de ^1H de RMN (500 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) de la Amoxicilina **12b**.



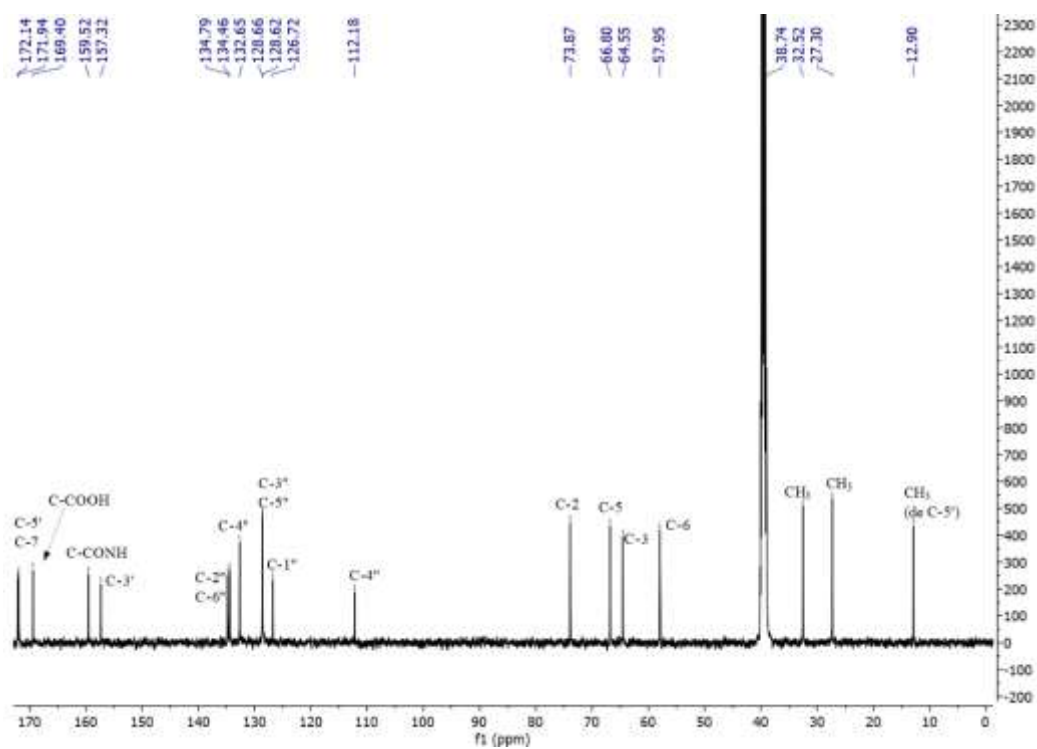
Espectro de ^{13}C de RMN (126 MHz, $\text{DMSO-}d_6$) de la Amoxicilina **12b**.



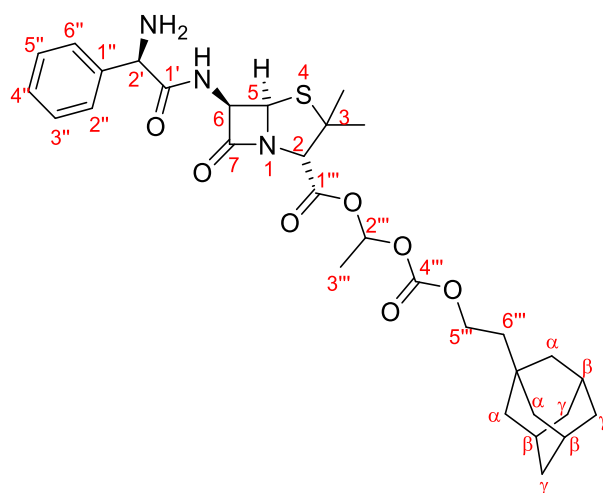
Asignación de la Dicloxacilina **13c**.



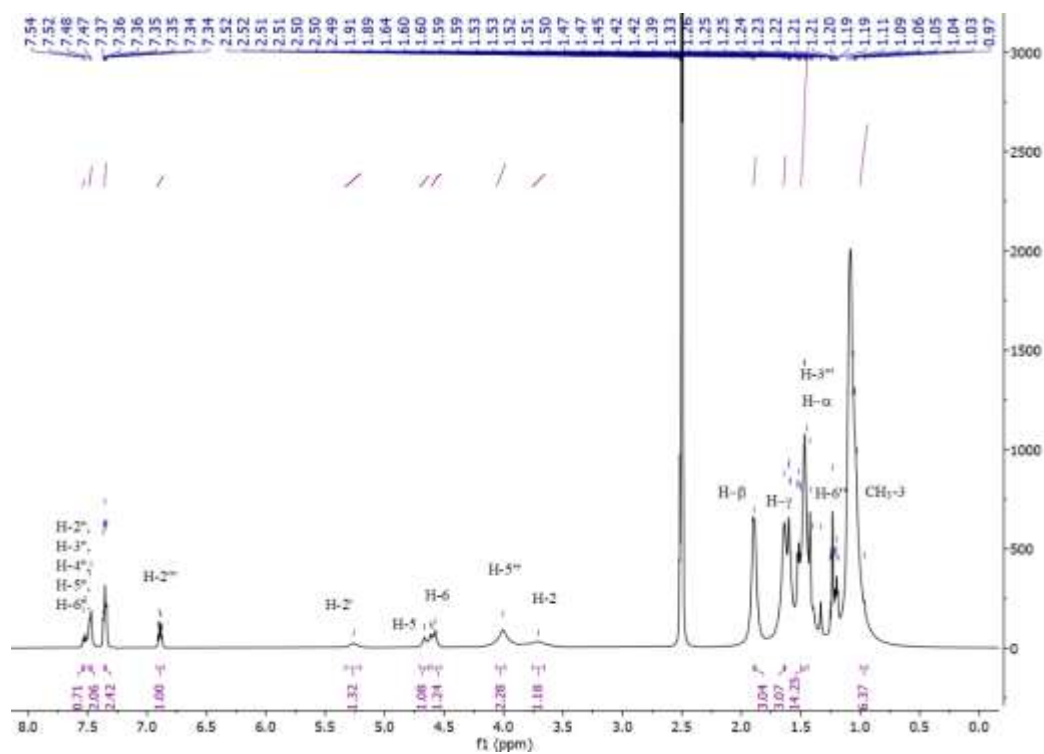
Espectro de ^1H de RMN (500 MHz, $\text{DMSO-}d_6$) de la Dicloxacilina **13c**.



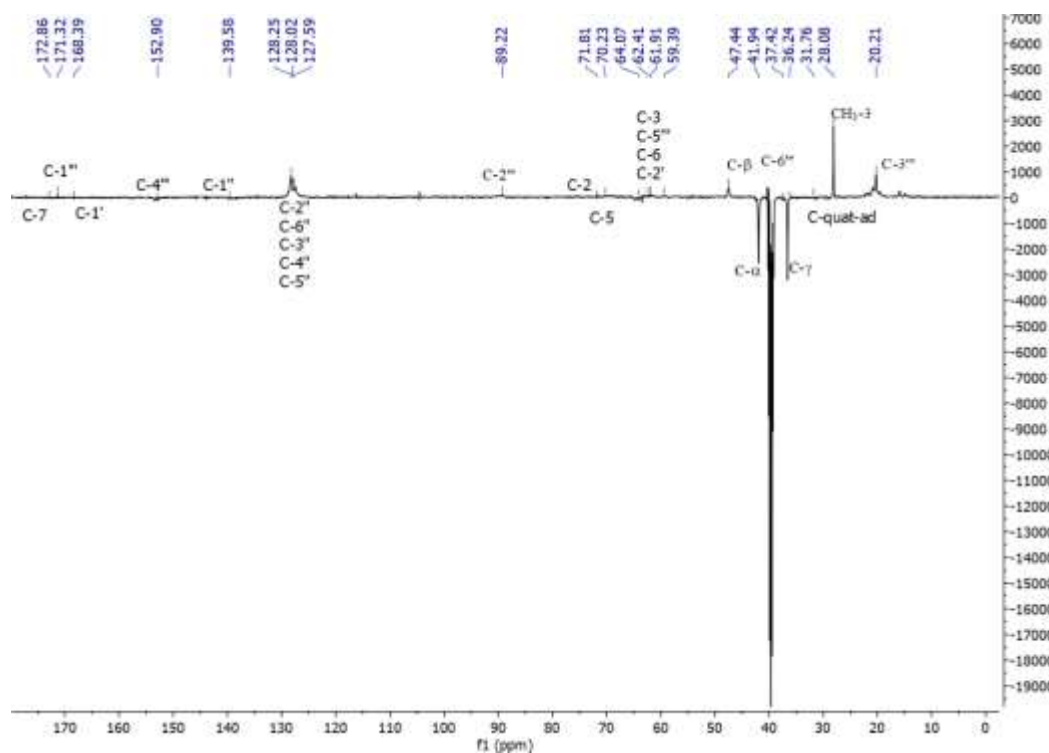
Espectro de ^{13}C de RMN (126 MHz, $\text{DMSO-}d_6$) de la Dicloxacilina **13c**.



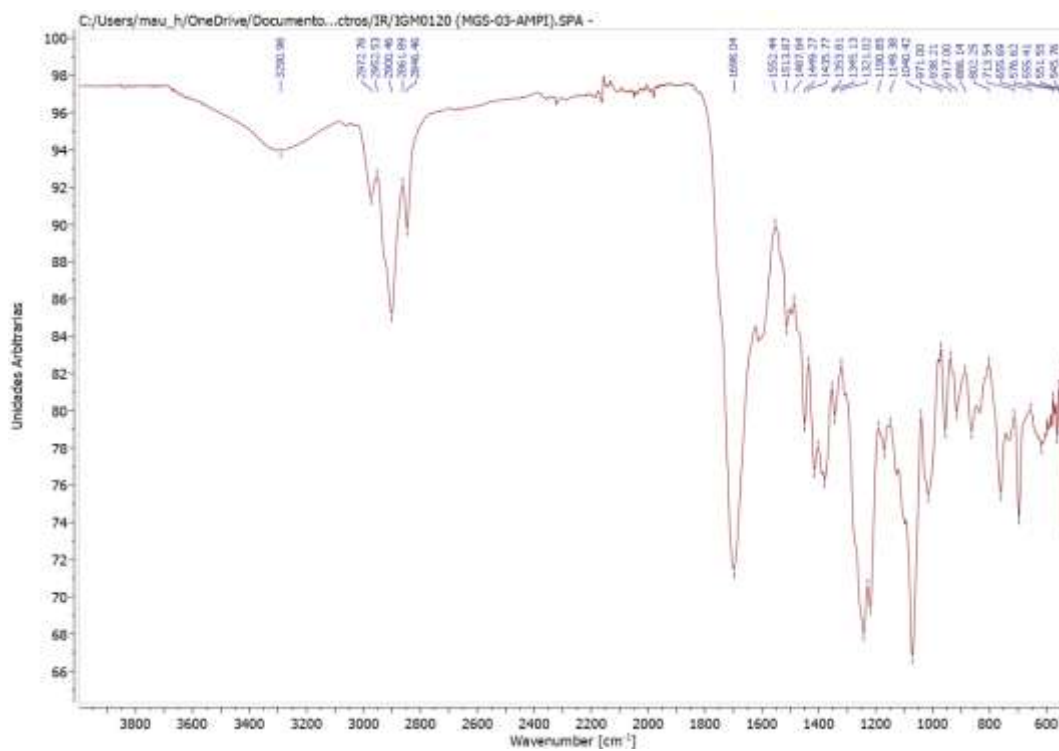
Asignación del profármaco **13a**.



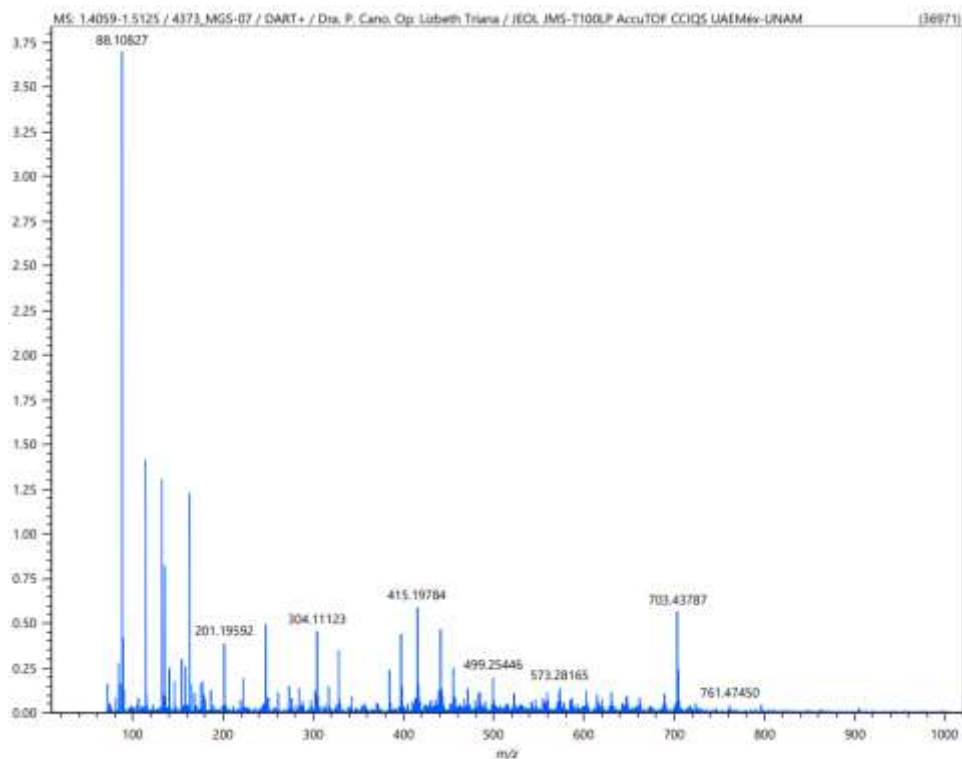
Espectro de ^1H de RMN (500 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) del profármaco **13a**.



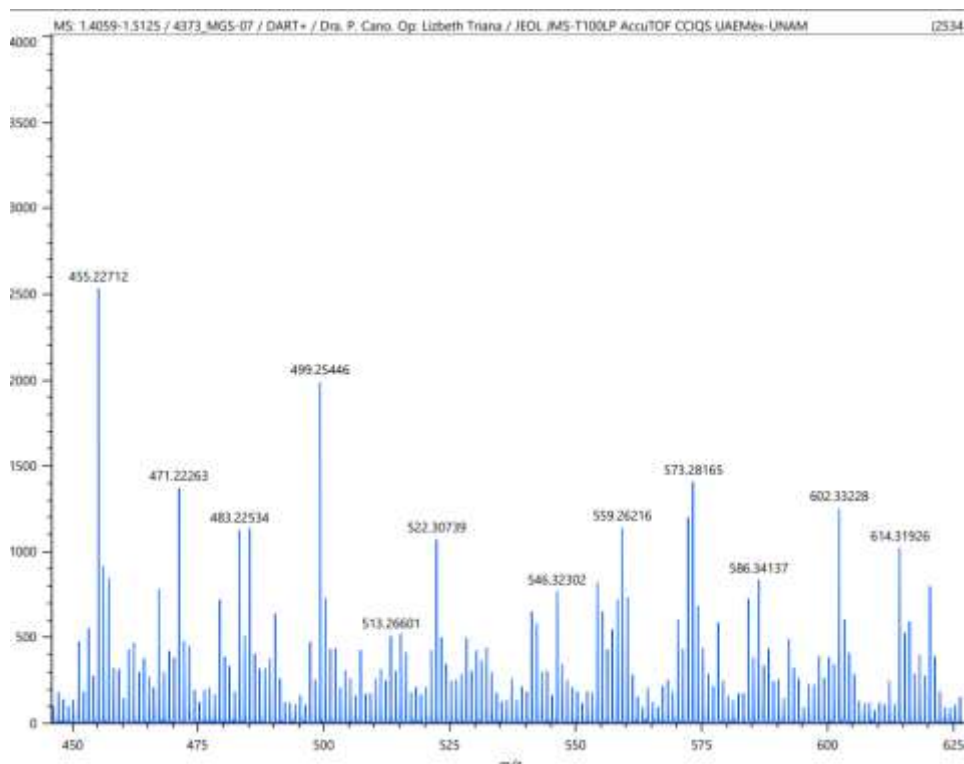
Espectro DEPTQ de RMN (126 MHz, DMSO-*d*₆) del profármaco **13a**.



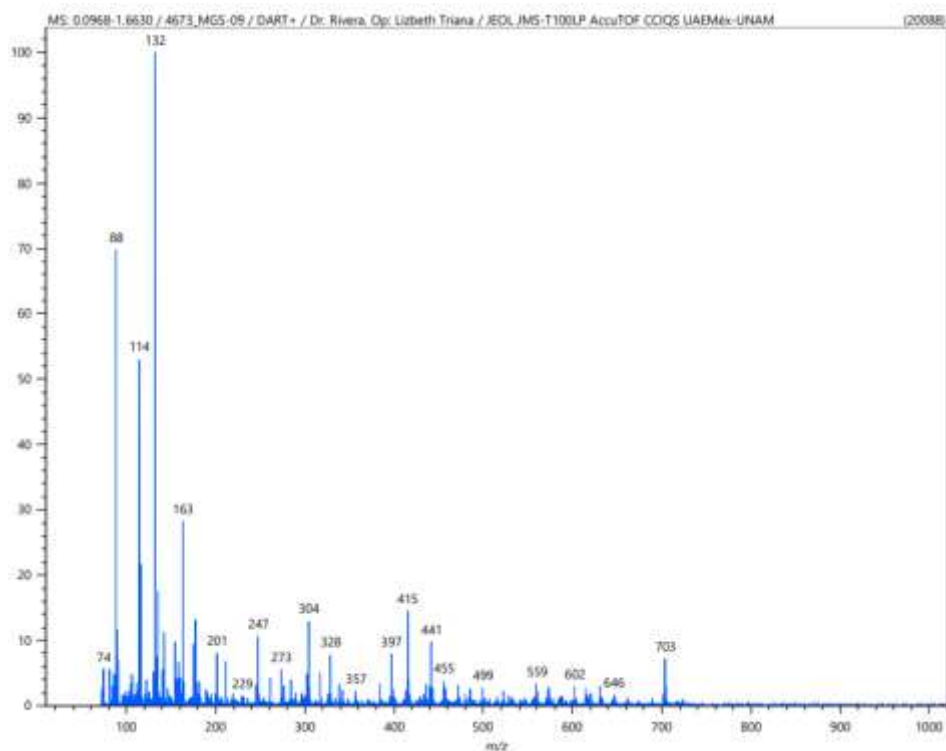
Espectro FTIR del profármaco **13a**.



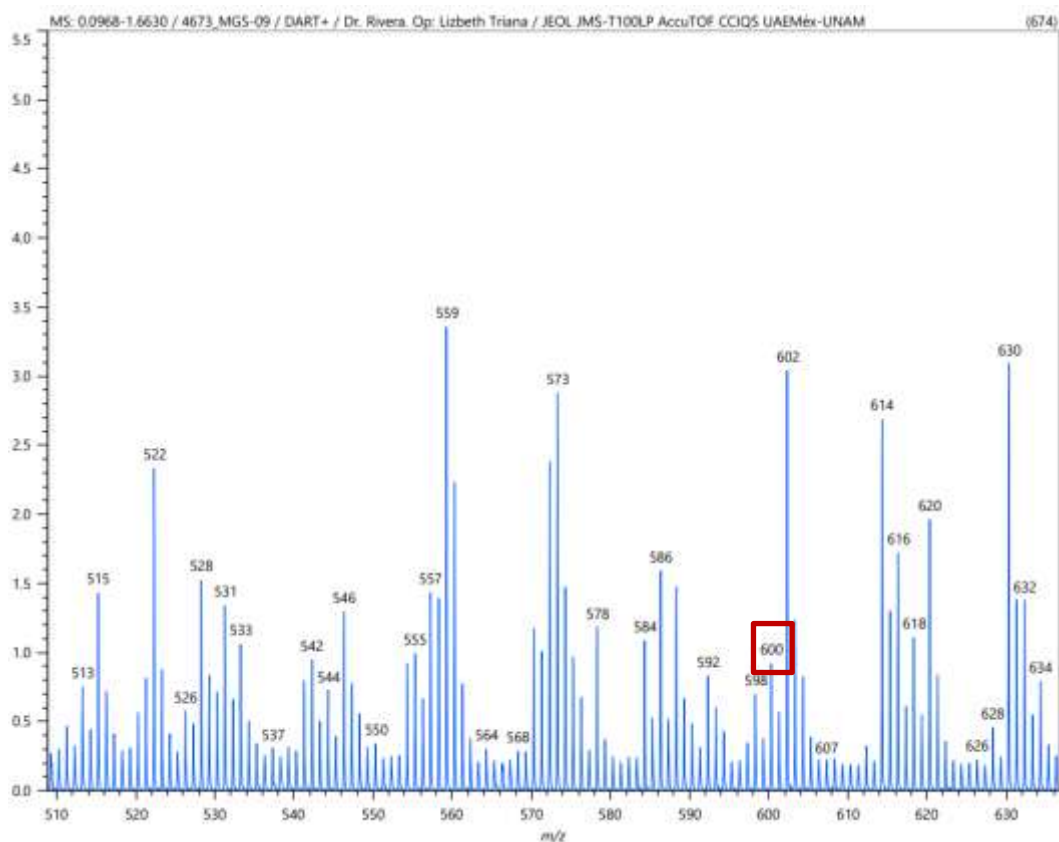
Espectro completo de HRMS DART⁺ del profármaco **13a**.



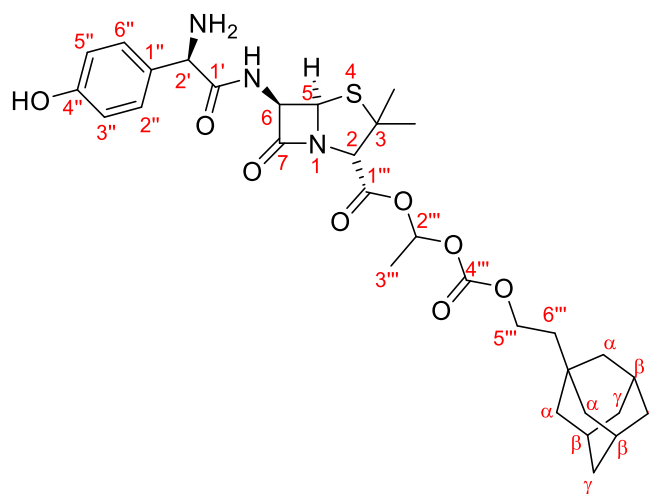
Ampliación de HRMS DART⁺ del profármaco **13a**.



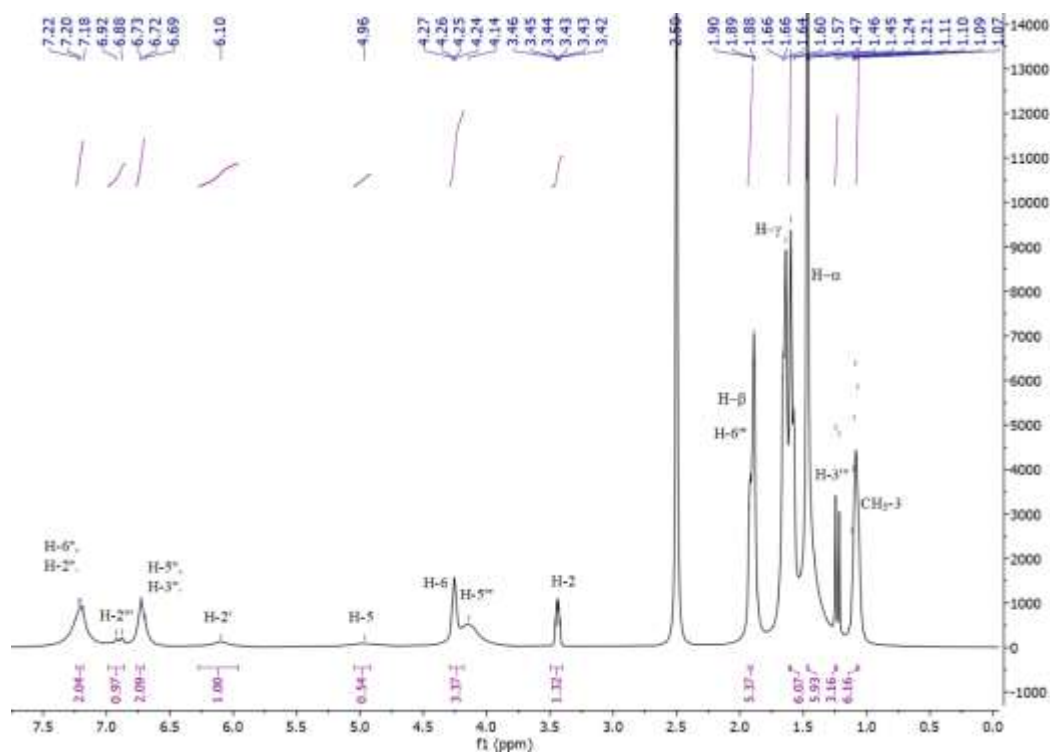
Espectro completo de LRMS DART⁺ del profármaco **13a**.



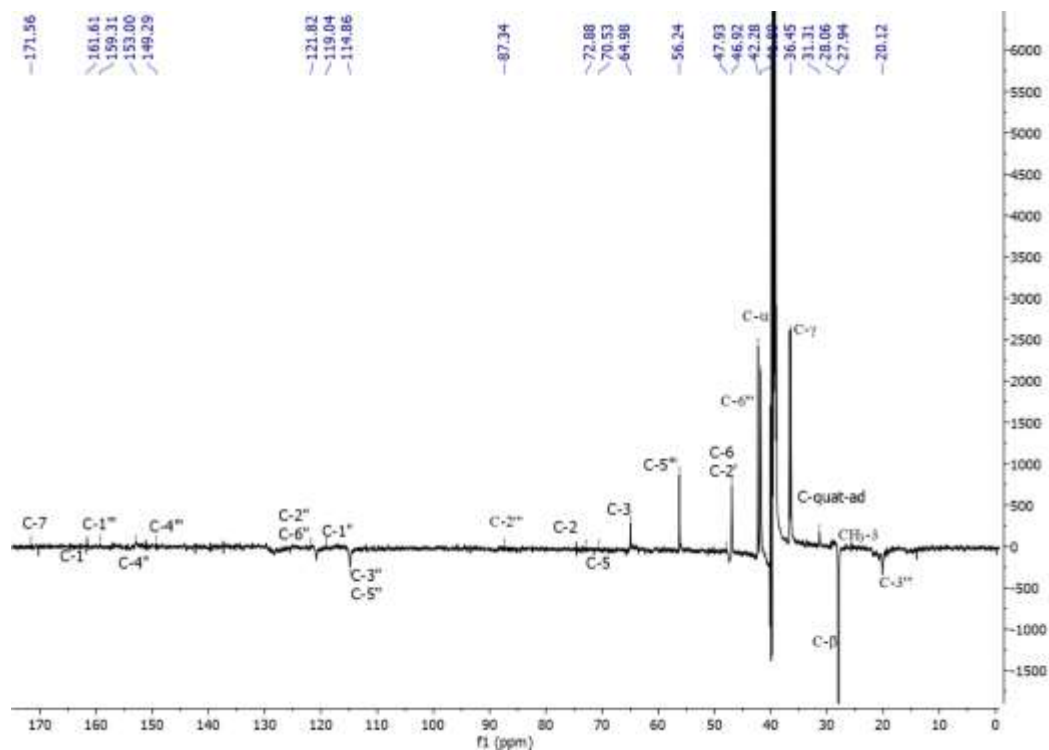
Ampliación de LRMS DART⁺ del profármaco **13a**, resultado en cuadro rojo [M + H].



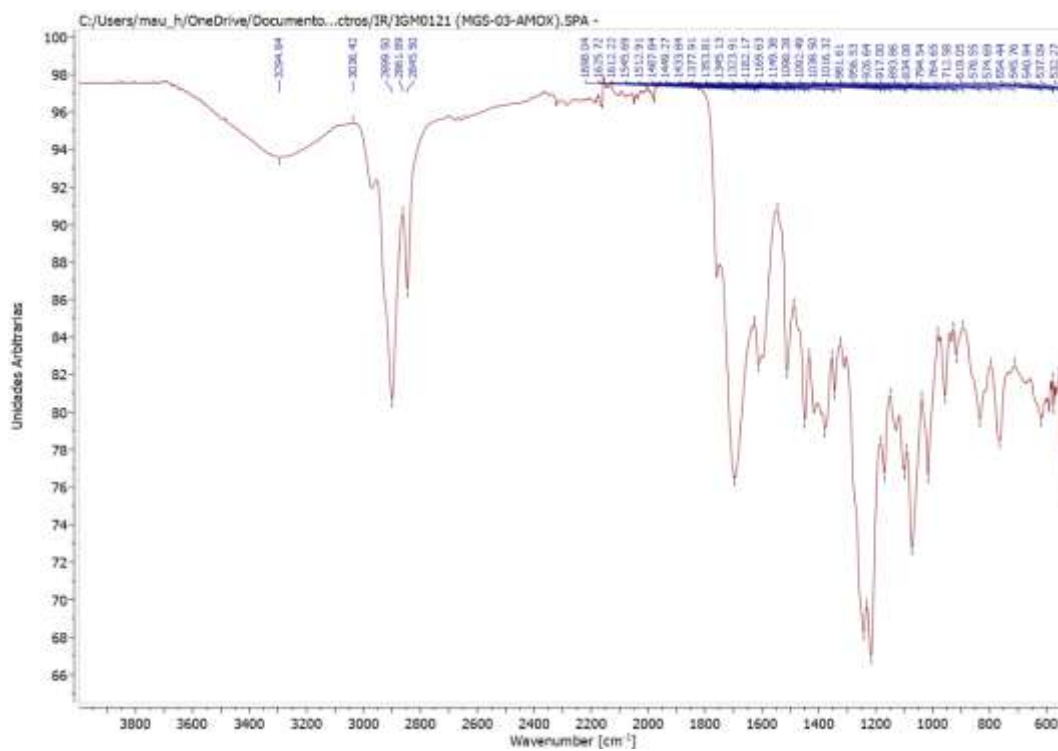
Asignación del profármaco **13b**.



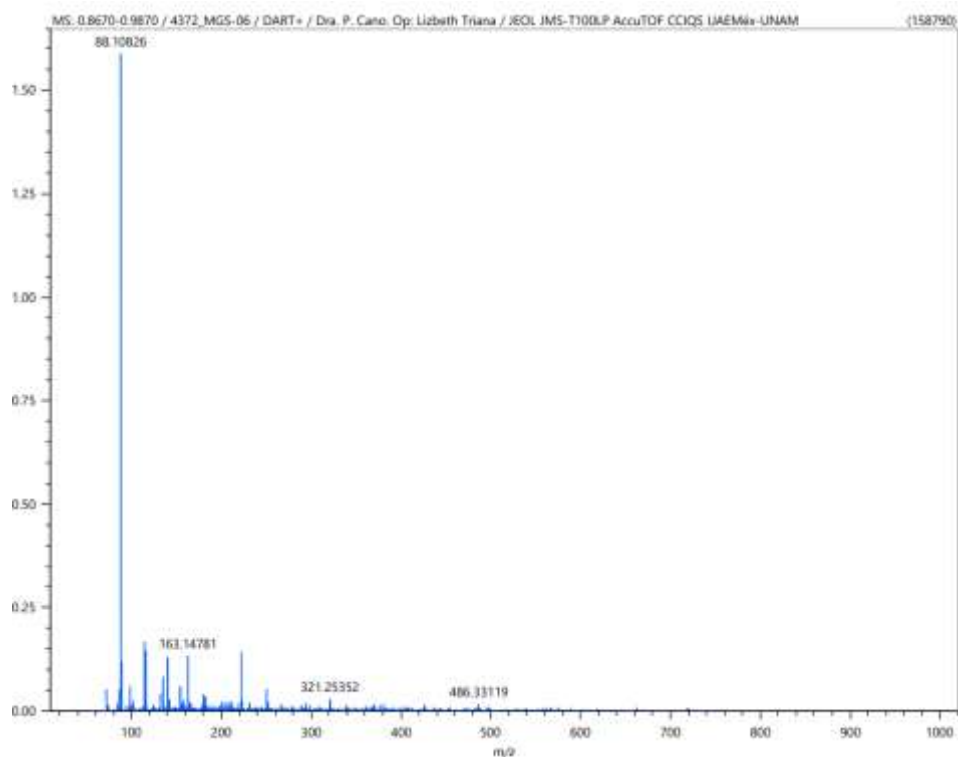
Espectro de ^1H de RMN (500 MHz, $\text{DMSO-}d_6$) del profármaco **13b**.



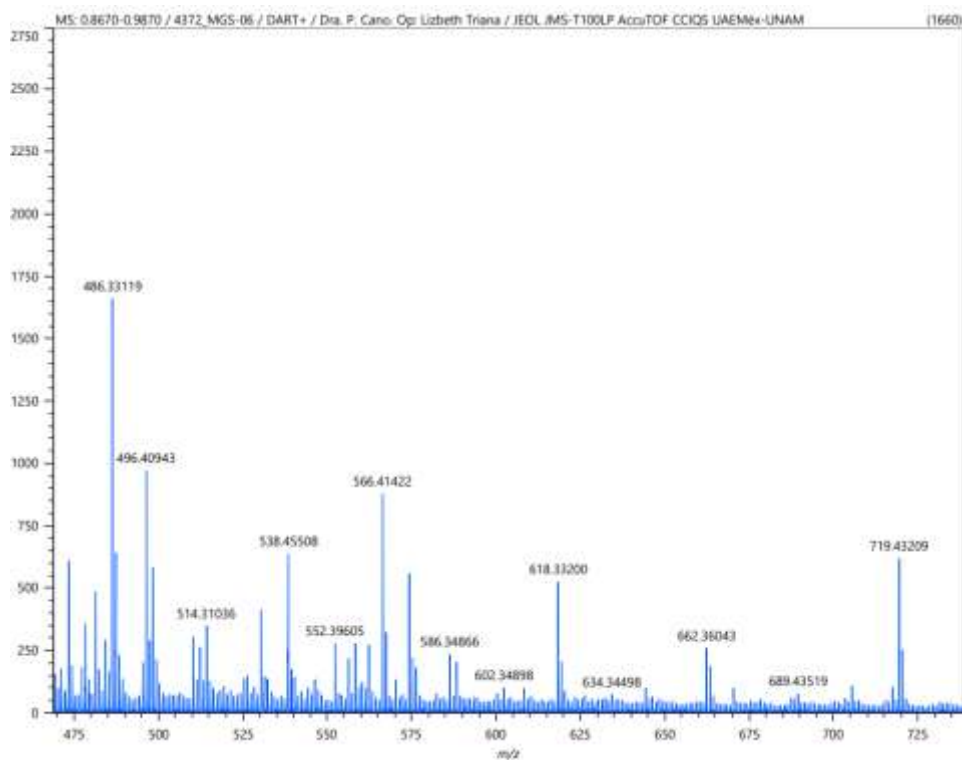
Espectro DEPTQ de RMN (126 MHz, DMSO- d_6) del profármaco **13b**.



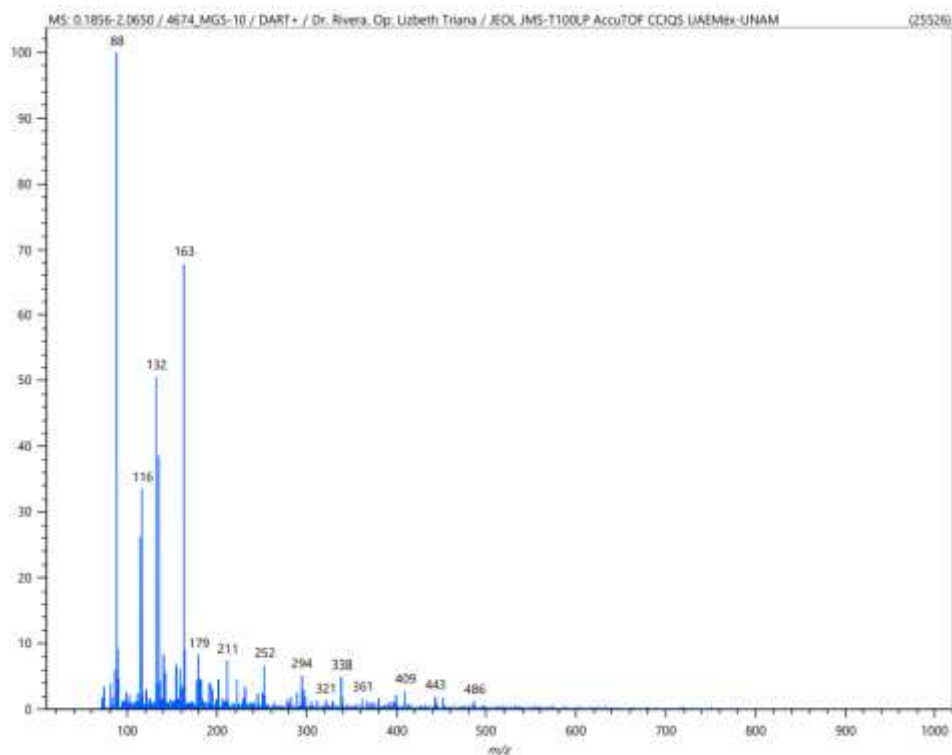
Espectro FTIR del profármaco **13b**.



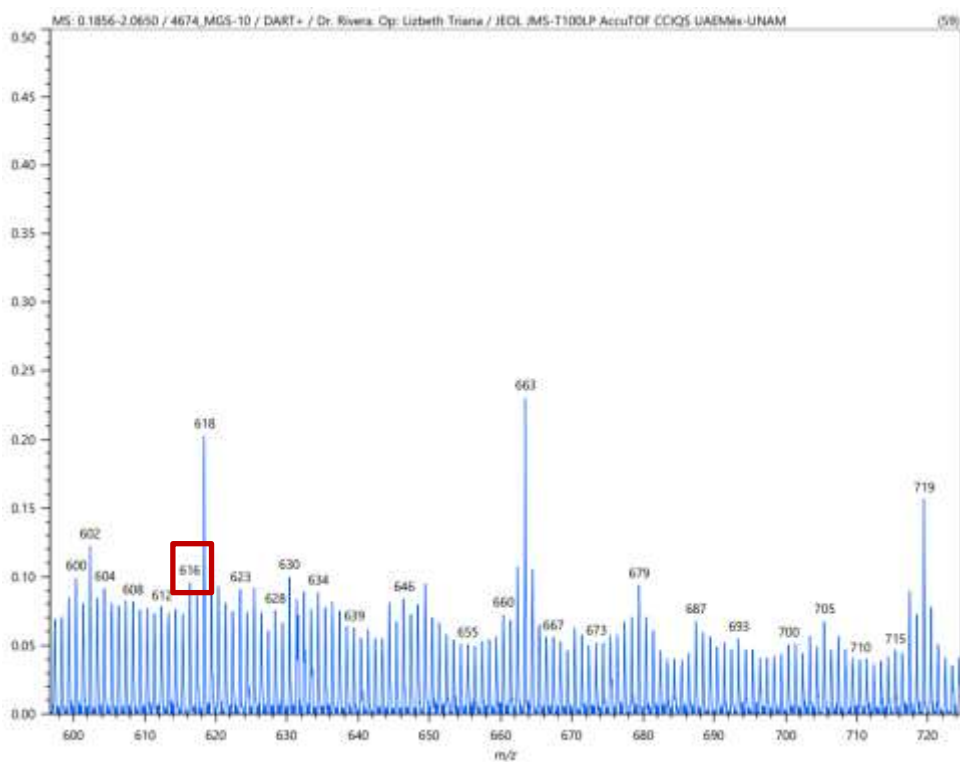
Espectro completo de HRMS DART⁺ del profármaco **13b**.



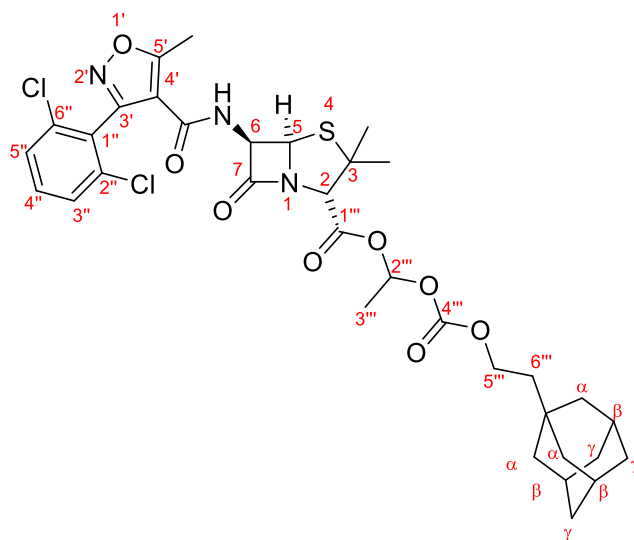
Ampliación de HRMS DART⁺ del profármaco **13b**.



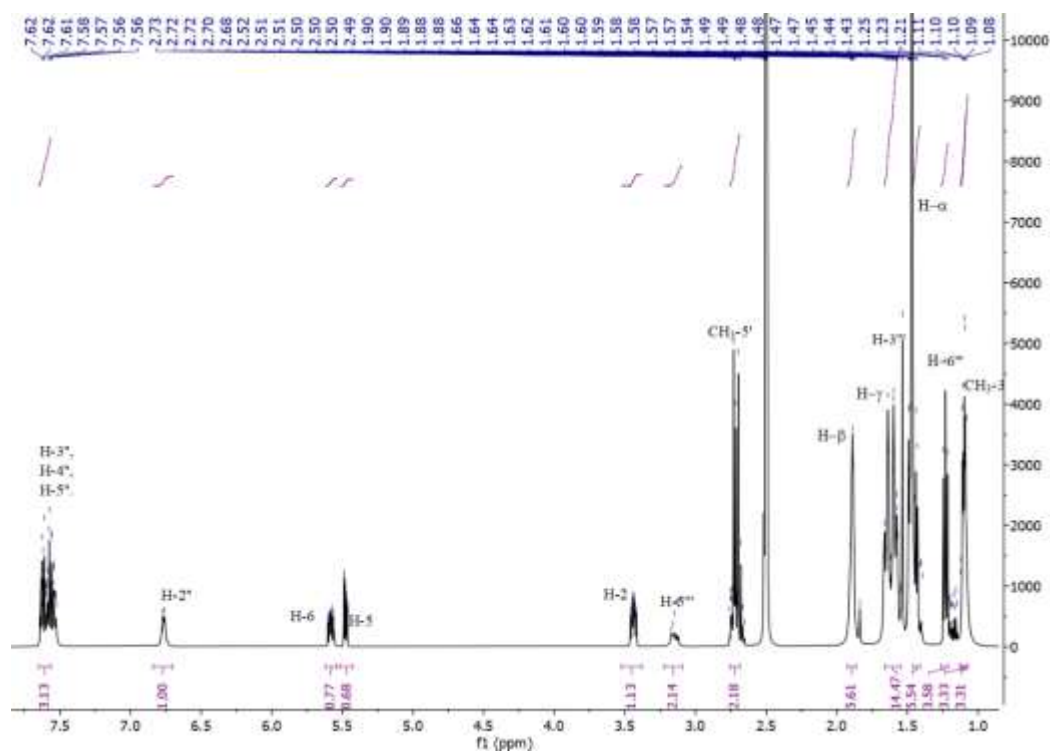
Espectro completo de LRMS DART⁺ del profármaco **13b**.



Ampliación de LRMS DART⁺ del profármaco **13b**, resaltado en cuadro rojo [M + H].

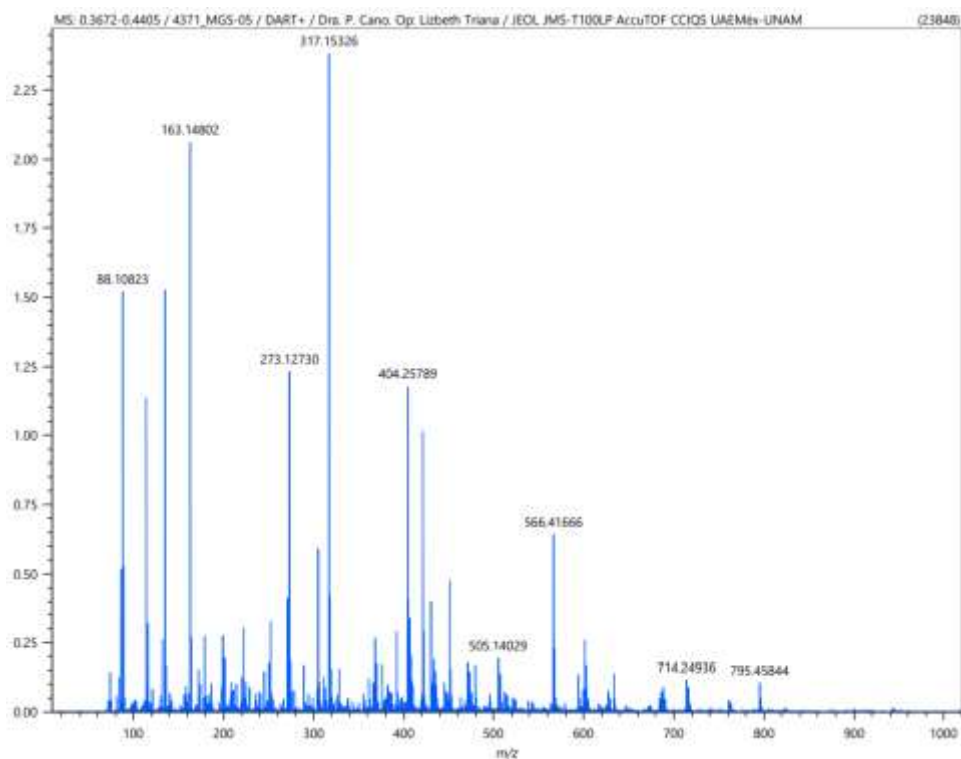


Asignación del profármaco **13c**.

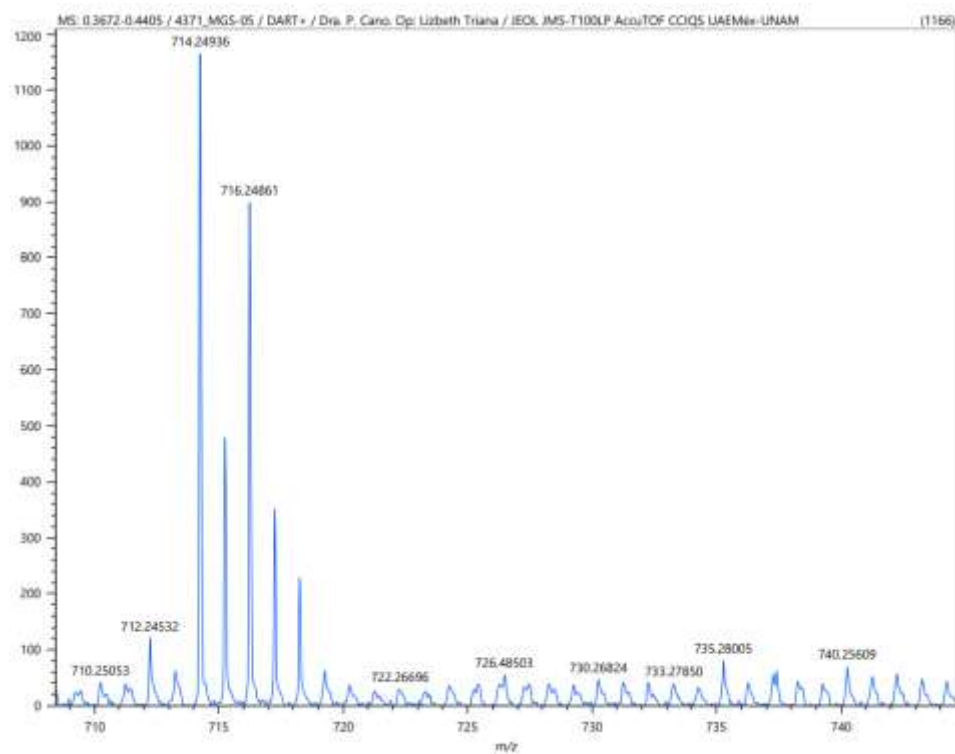


Espectro de ^1H de RMN (500 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) del profármaco **13c**.

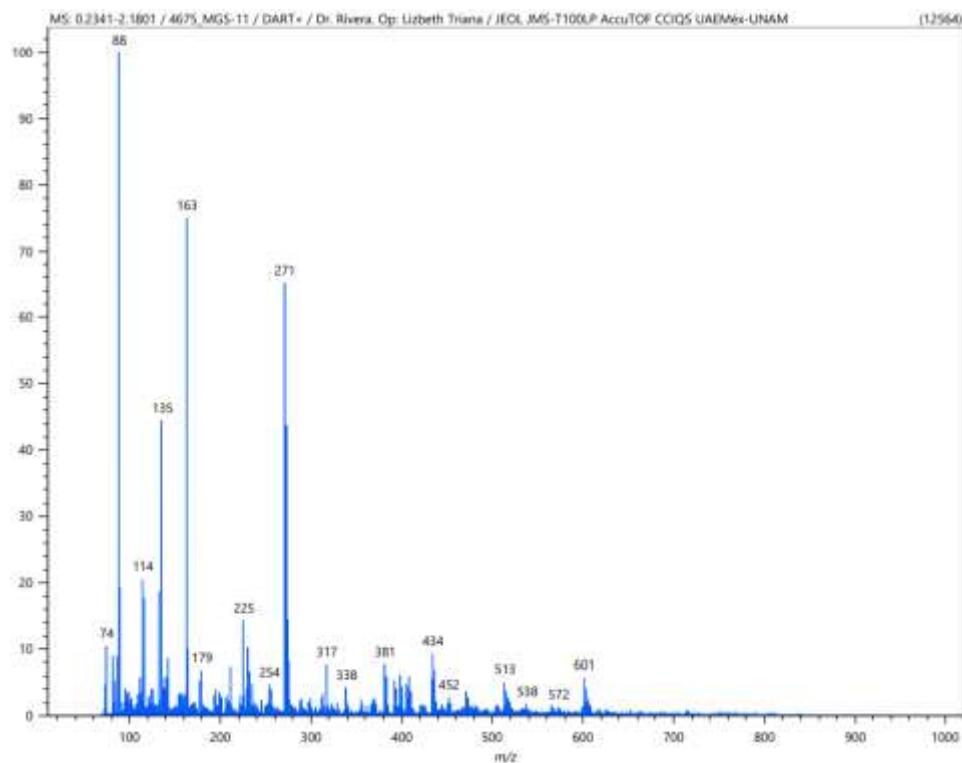




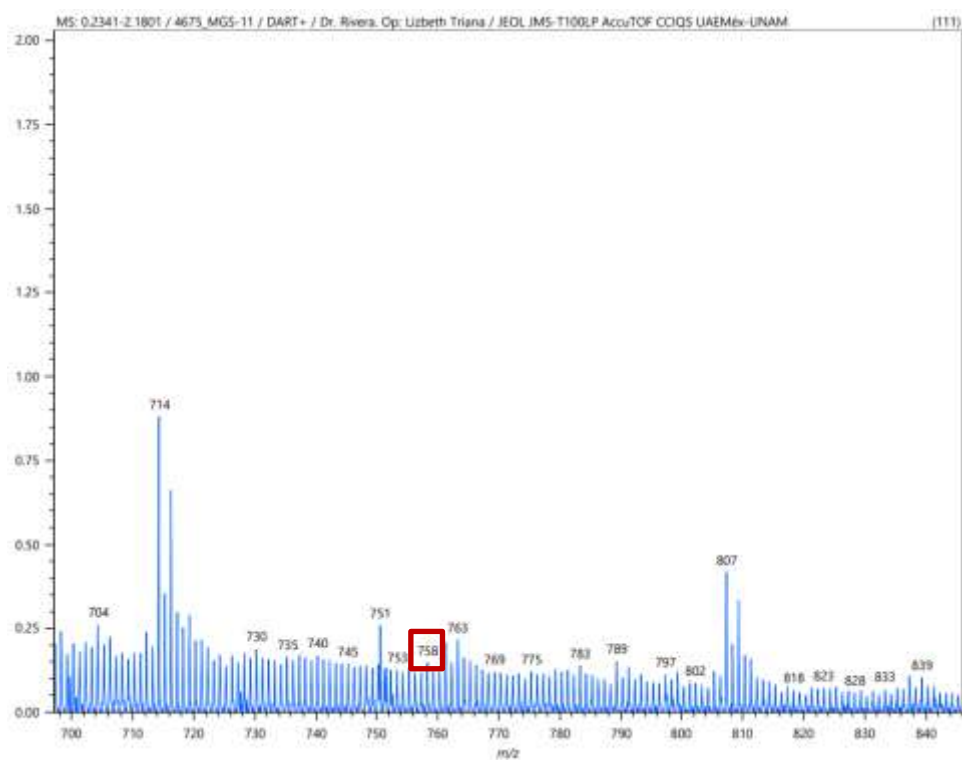
Espectro completo de HRMS DART⁺ del profármaco **13c**.



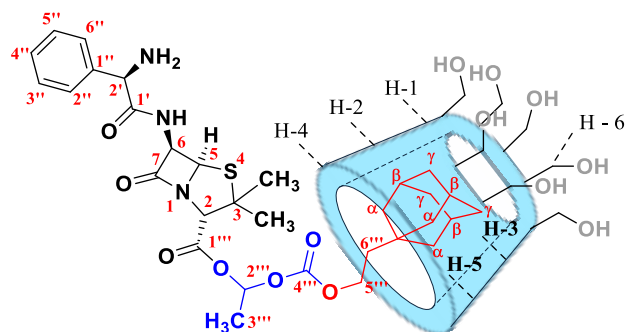
Ampliación de HRMS DART⁺ del profármaco **13c**



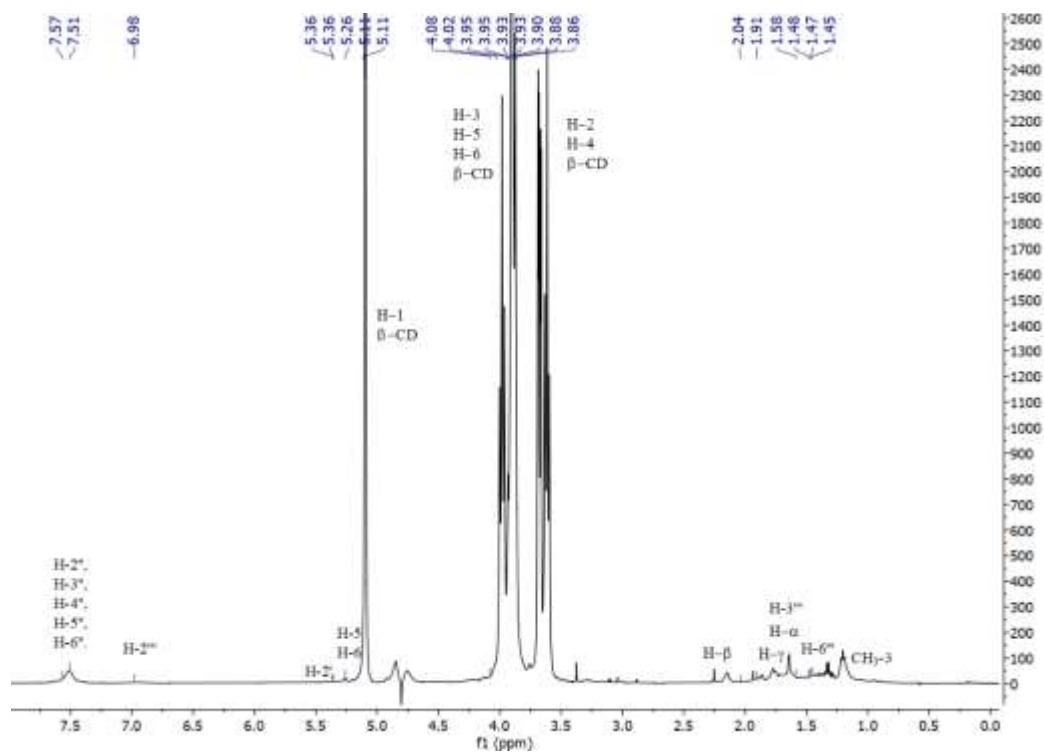
Espectro completo de LRMS DART⁺ del profármaco **13c**.



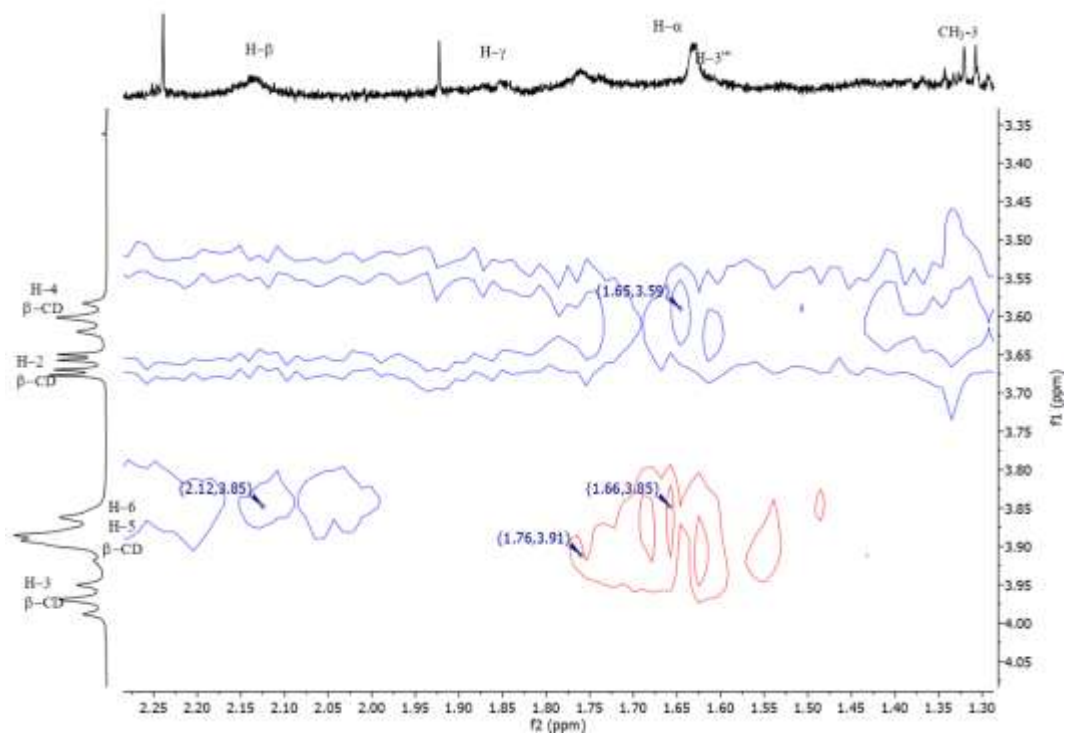
Ampliación de LRMS DART⁺ del profármaco **13b**, resaltado en cuadro rojo [M + K].



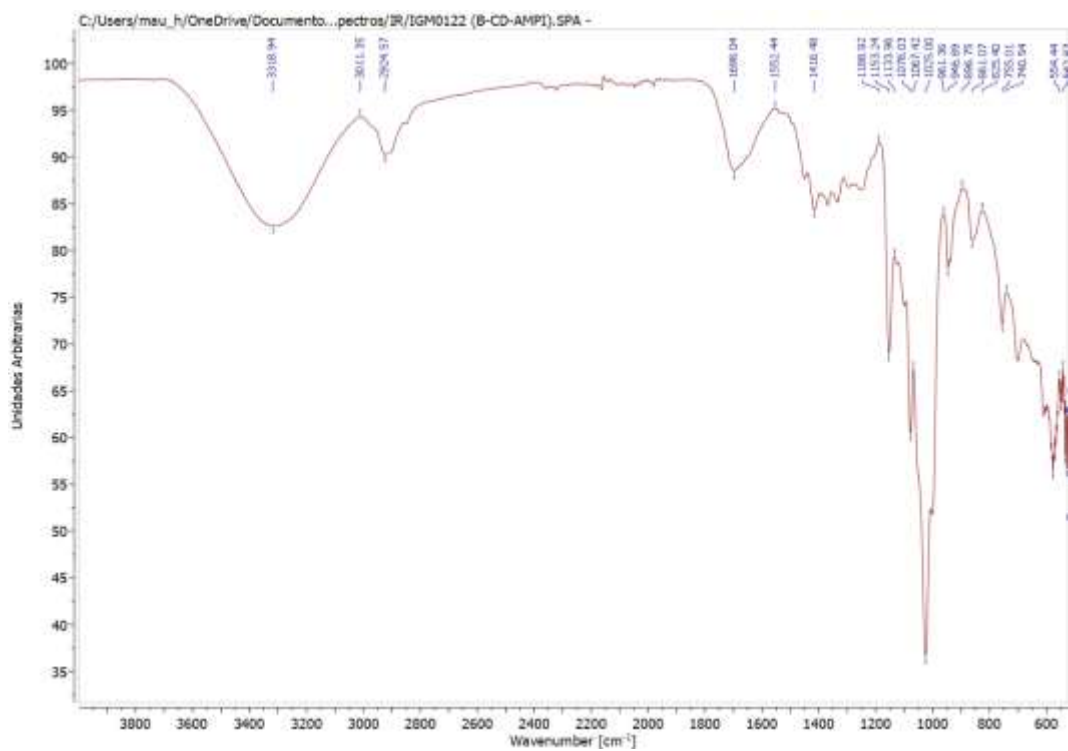
Asignación del CI **14a**.



Espectro de ^1H de RMN (500 MHz, D_2O) del IC **14a**.

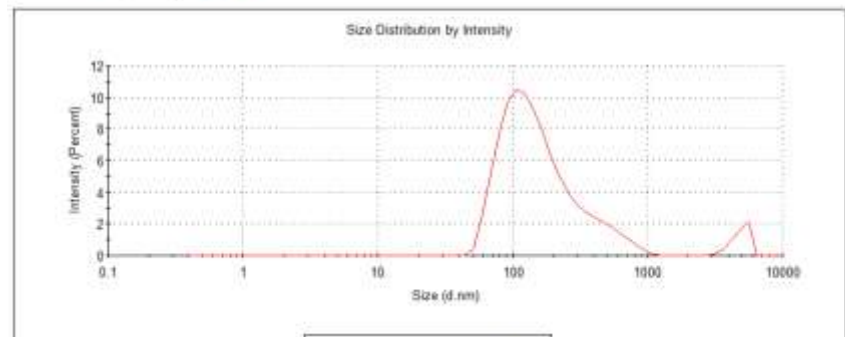


Espectro NOESY de RMN (500 MHz, D₂O) del CI **14a**.

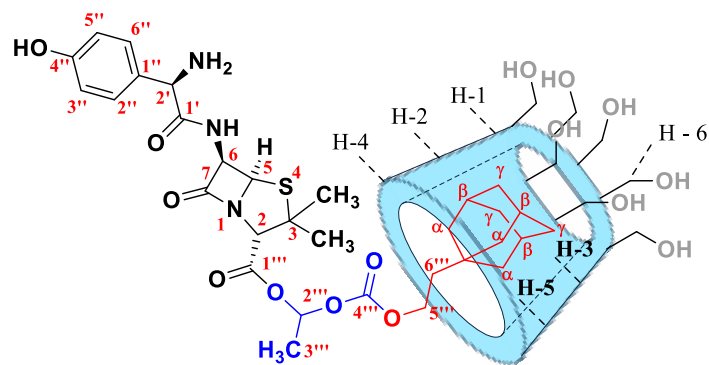


Espectro FTIR del CI **14a**.

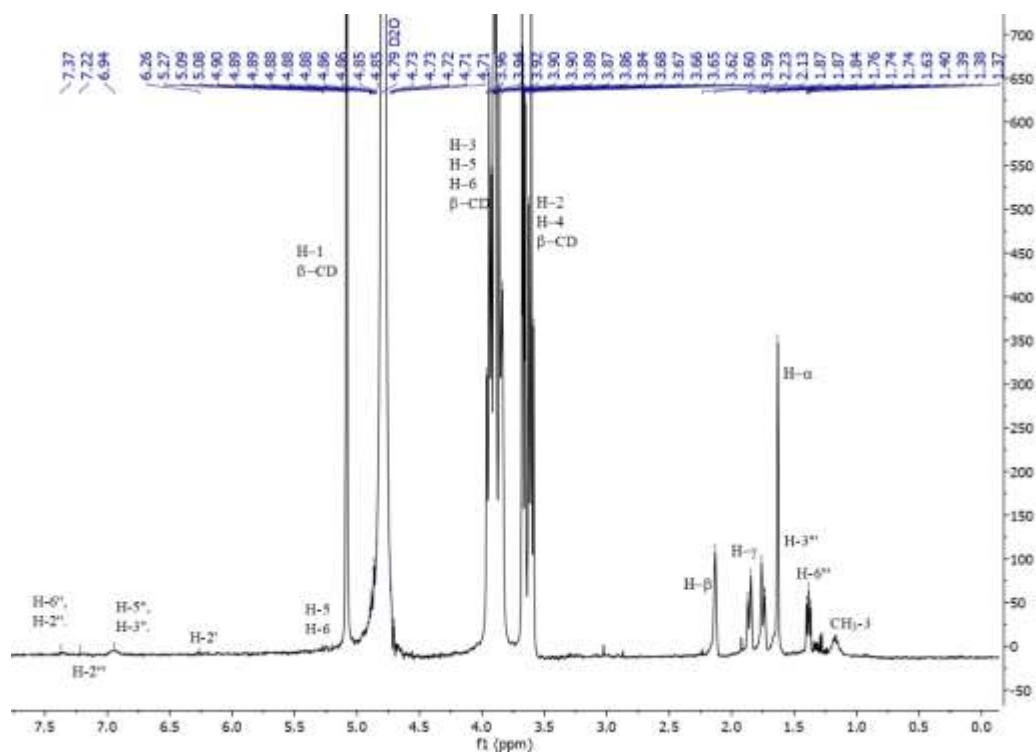
SOP Name: Mauricio.sop			
File Name: Mauricio.dls		Dispersant Name: Water	
Record Number: 19		Dispersant RI: 1.330	
Material RI: 1.59		Viscosity (cP): 0.8872	
Material Absorption: 0.010		Measurement Date and Time: lunes, 29 de septiembre de 2025 03:	
Temperature (°C): 25.0		Duration Used (s): 60	
Count Rate (kops): 119.5		Measurement Position (mm): 4.85	
Cell Description: Disposable sizing cuvette		Attenuator: 10	
	Size (d.nm):	% Intensity:	St Dev (d.nm):
Z-Average (d.nm): 145.3	Peak 1: 187.3	94.8	149.3
Pdi: 0.363	Peak 2: 4877	5.2	690.5
Intercept: 0.000	Peak 3: 0.000	0.0	0.000
Result quality : Good			



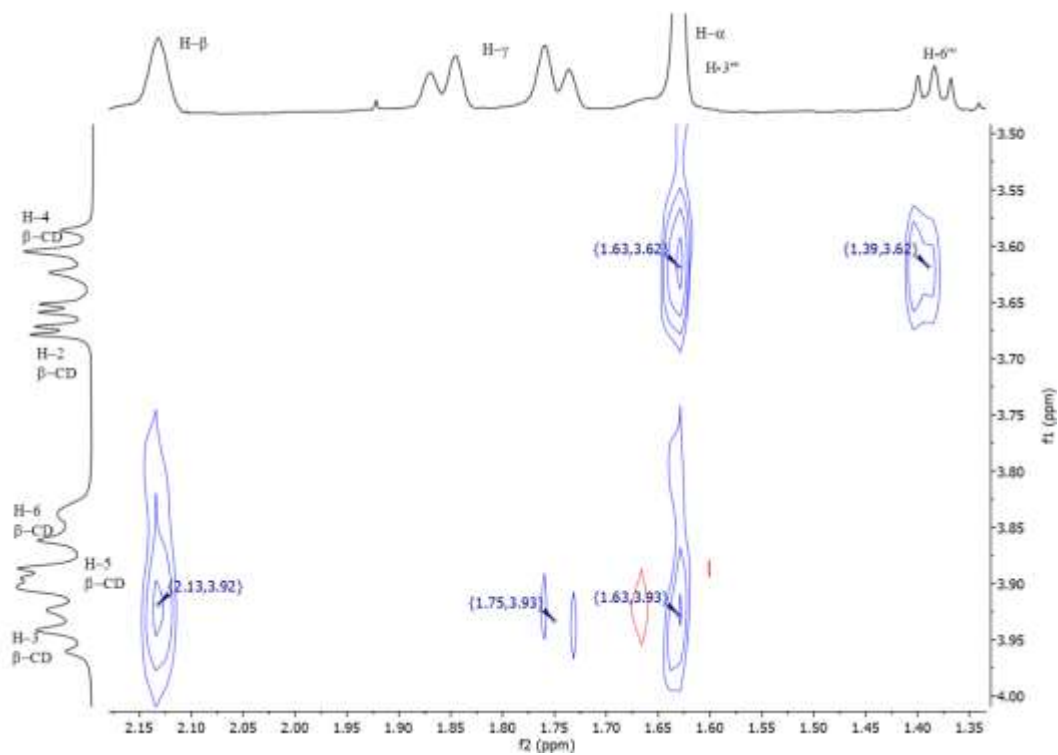
Espectro DLS del CI 14a.



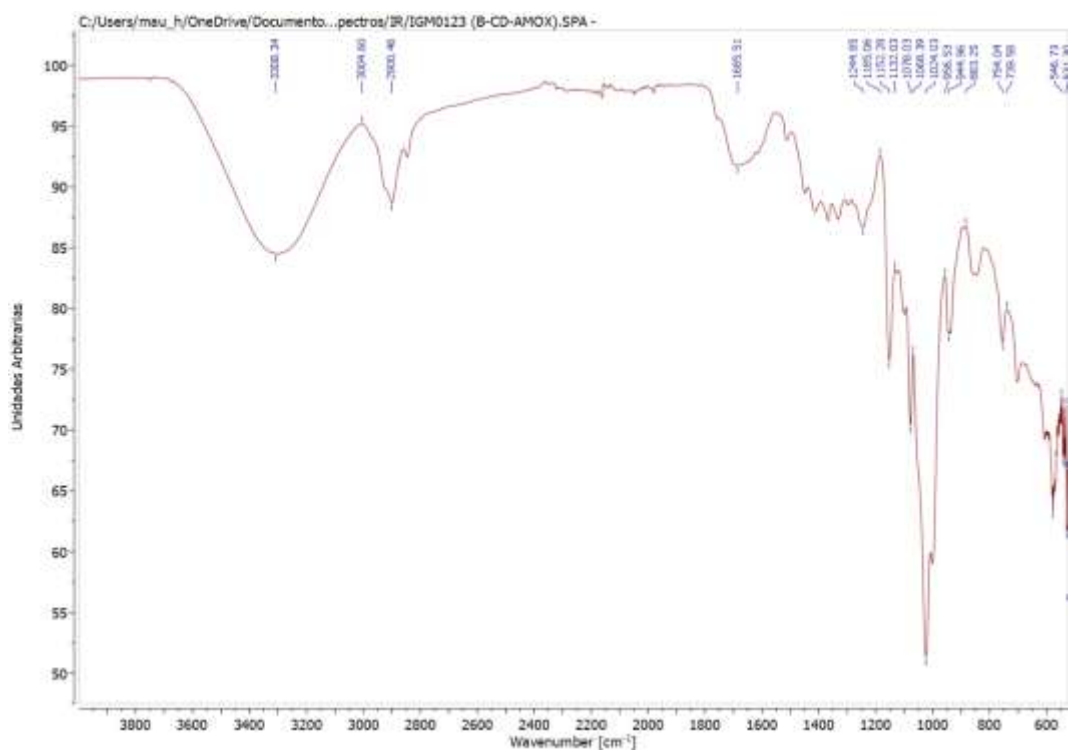
Asignación del CI **14b**.



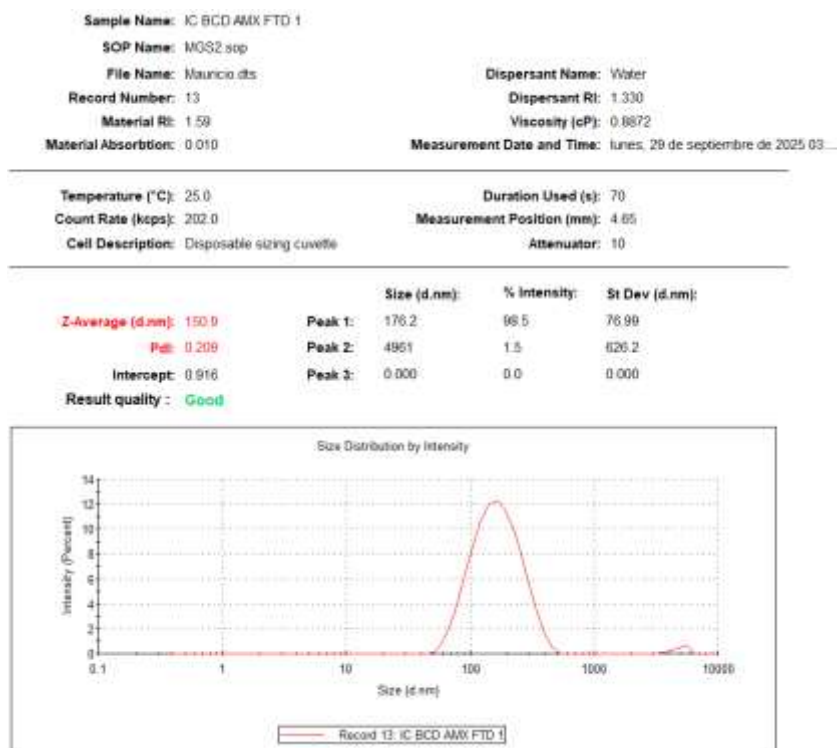
Espectro de ^1H RMN (500 MHz, D_2O) del IC **14b**.



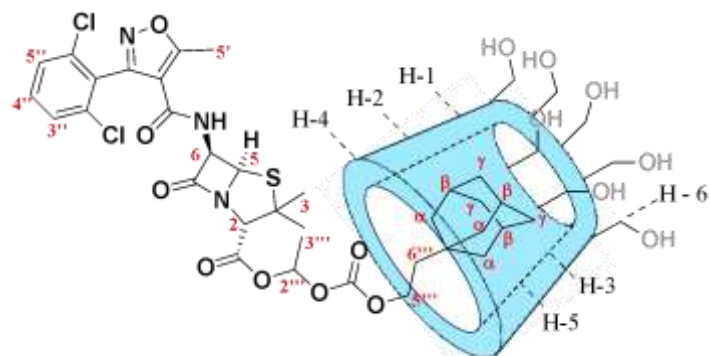
Espectro NOESY de RMN (500 MHz, D₂O) del IC **14b**.



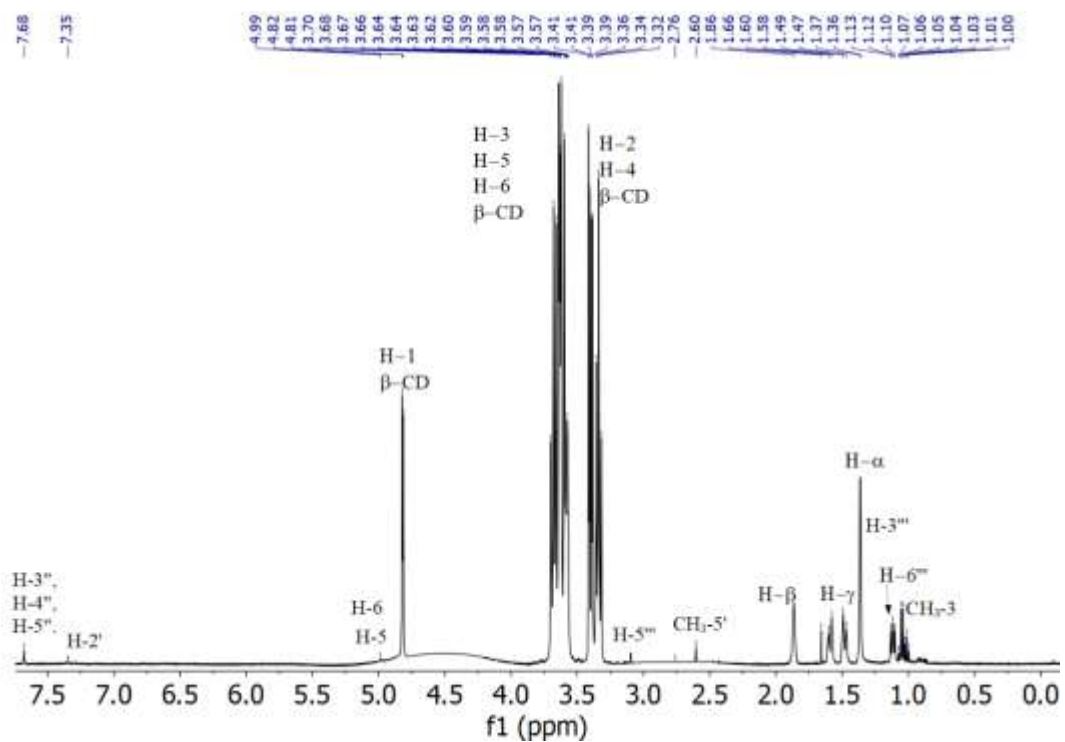
Espectro FTIR del CI **14b**.



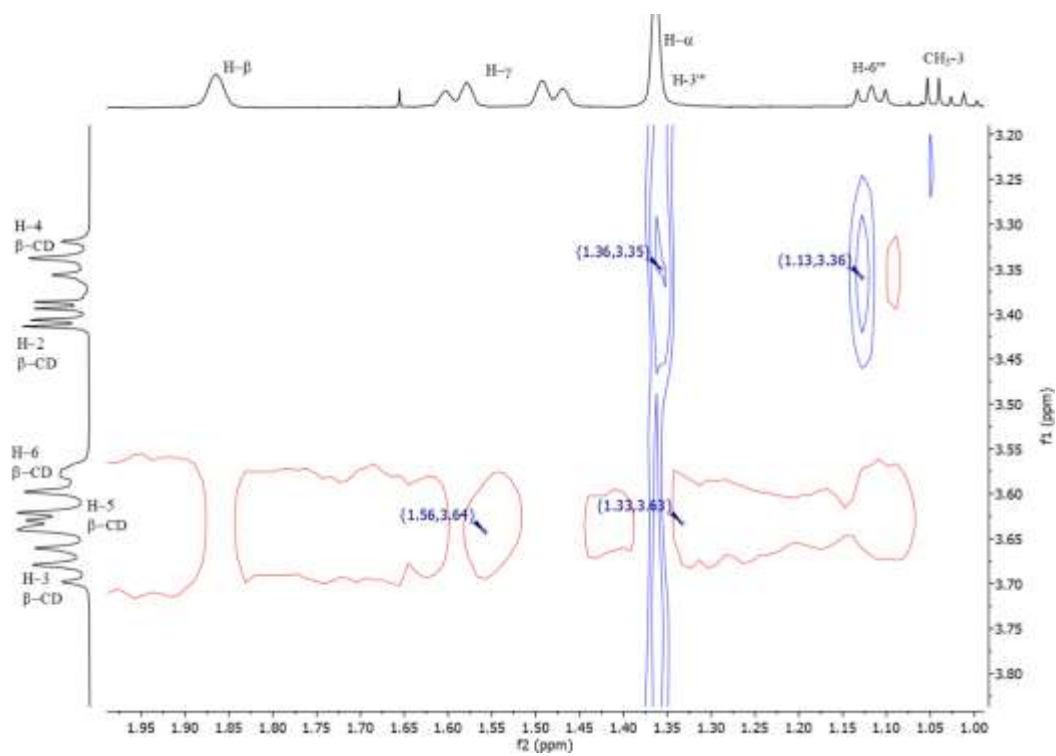
Espectro DLS del CI 14b.



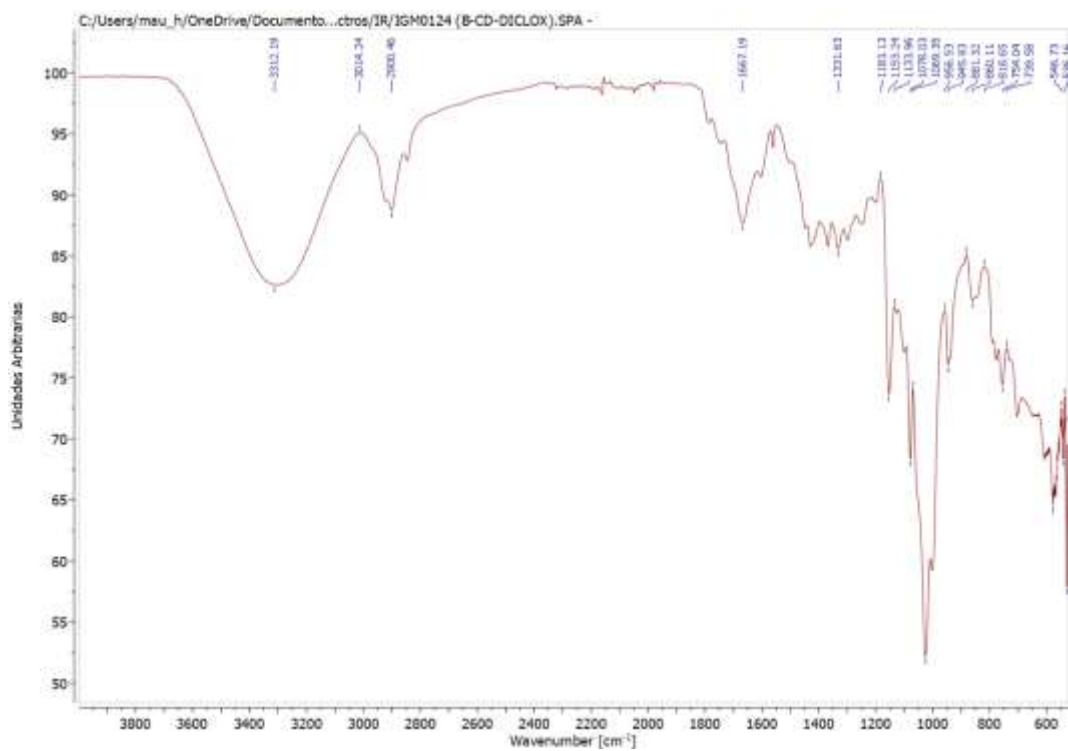
Asignación del CI **14c**.



Espectro de ^1H de RMN (500 MHz, D_2O) del CI **14c**.

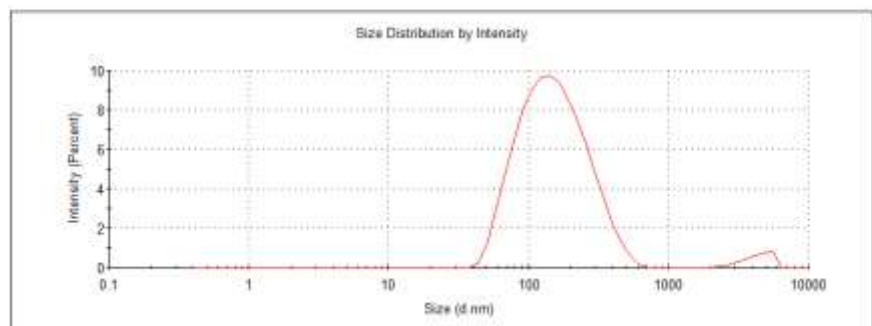


Espectro NOESY de RMN (500 MHz, D₂O) del CI 14c.

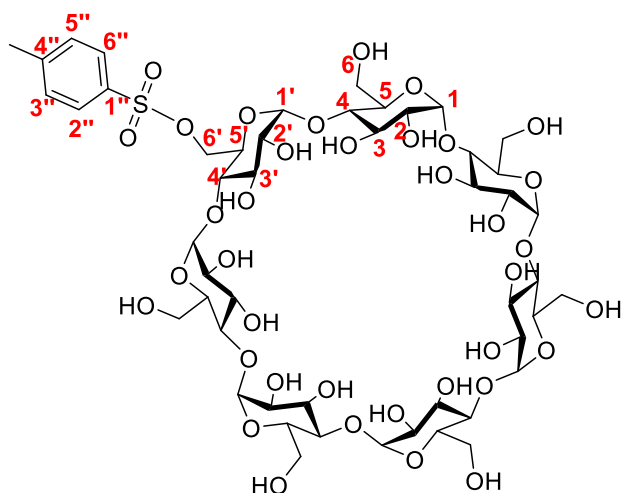


Espectro FTIR del CI 14c.

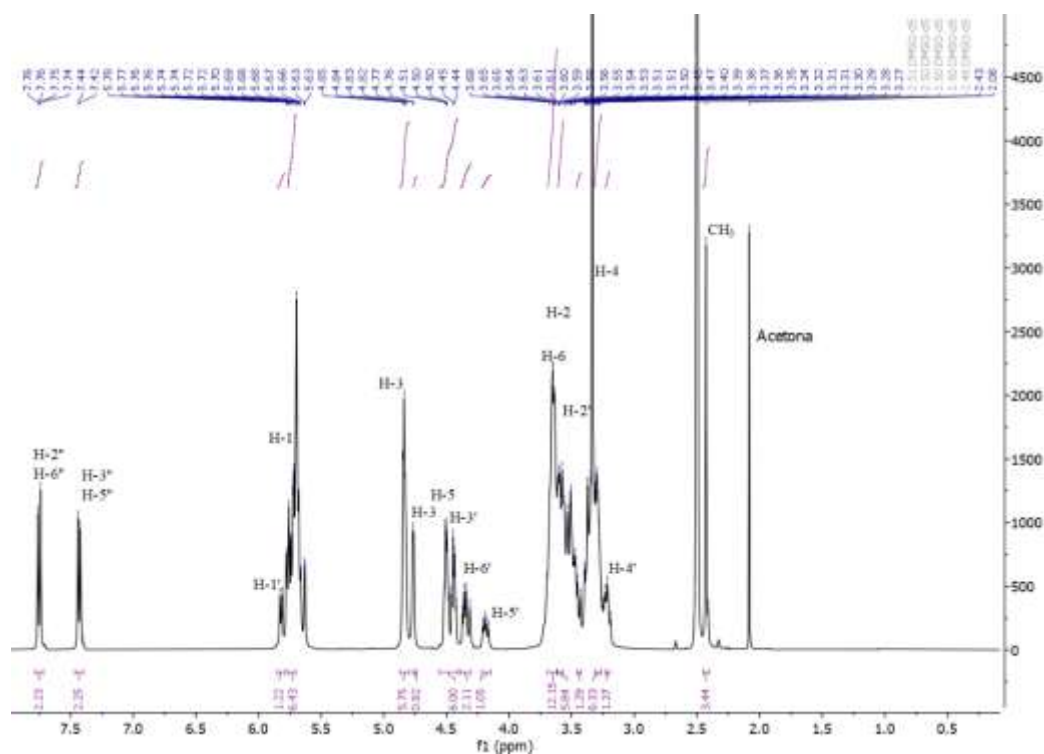
SOP Name: Mauricio.sop		Dispersant Name: Water	
File Name: Mauricio.dts		Dispersant RI: 1.330	
Record Number: 3		Viscosity (cP): 0.8872	
Material RI: 1.59		Measurement Date and Time: lunes, 29 de septiembre de 2025 02:	
Material Absorbion: 0.010			
Temperature (°C): 25.0		Duration Used (s): 60	
Count Rate (kcps): 255.1		Measurement Position (mm): 1.25	
Cell Description: Disposable sizing cuvette		Attenuator: 9	
Z-Average (d.nm): 138.5		Size (d.nm):	% Intensity: St Dev (d.nm):
PdI: 0.249		Peak 1:	169.4 97.0 94.58
Intercept: 0.916		Peak 2:	4424 3.0 912.6
Result quality : Good		Peak 3:	0.000 0.0 0.000



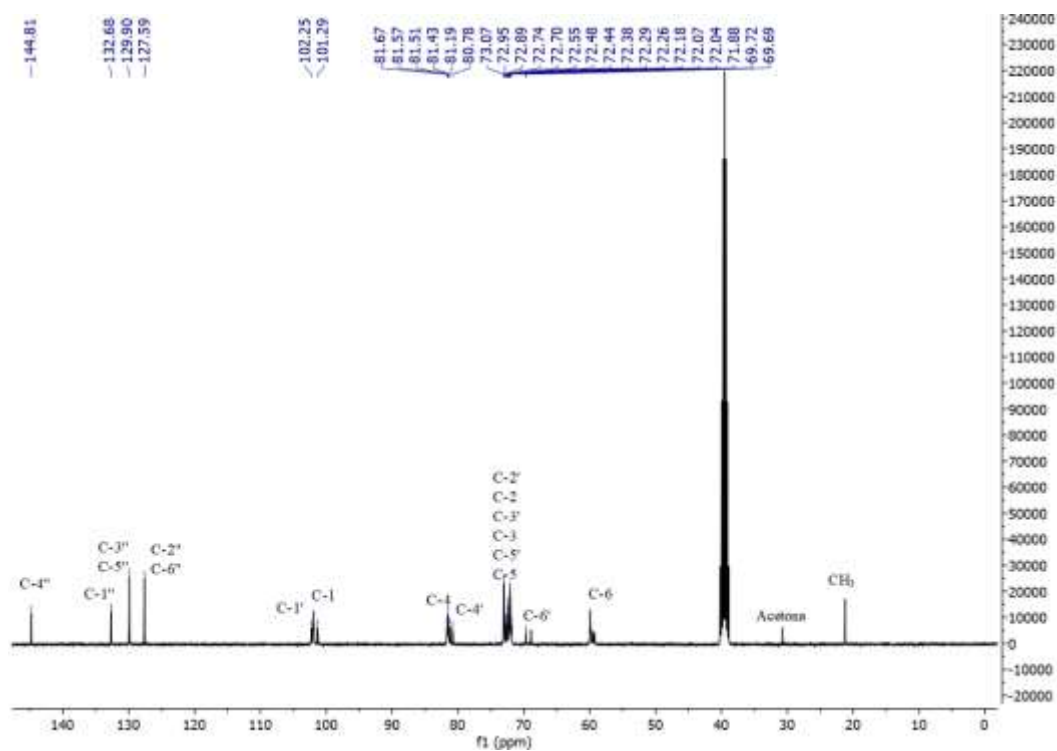
Espectro DLS del CI 14c.



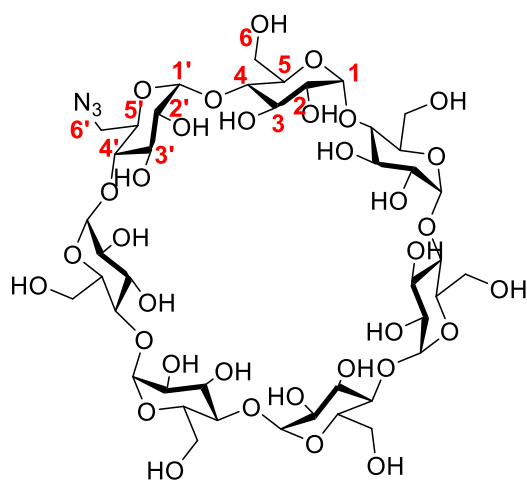
Asignación de la mono-tosil- β -CD **15**.



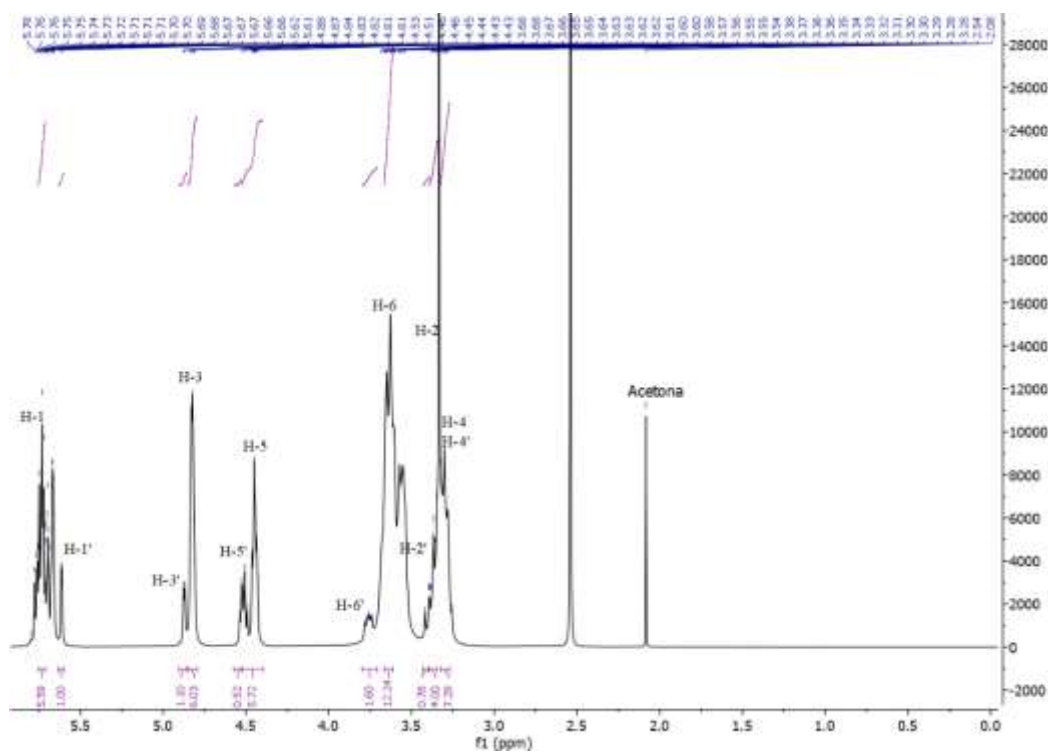
Espectro de ^1H de RMN (500 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) de la mono-tosil- β -CD **15**.



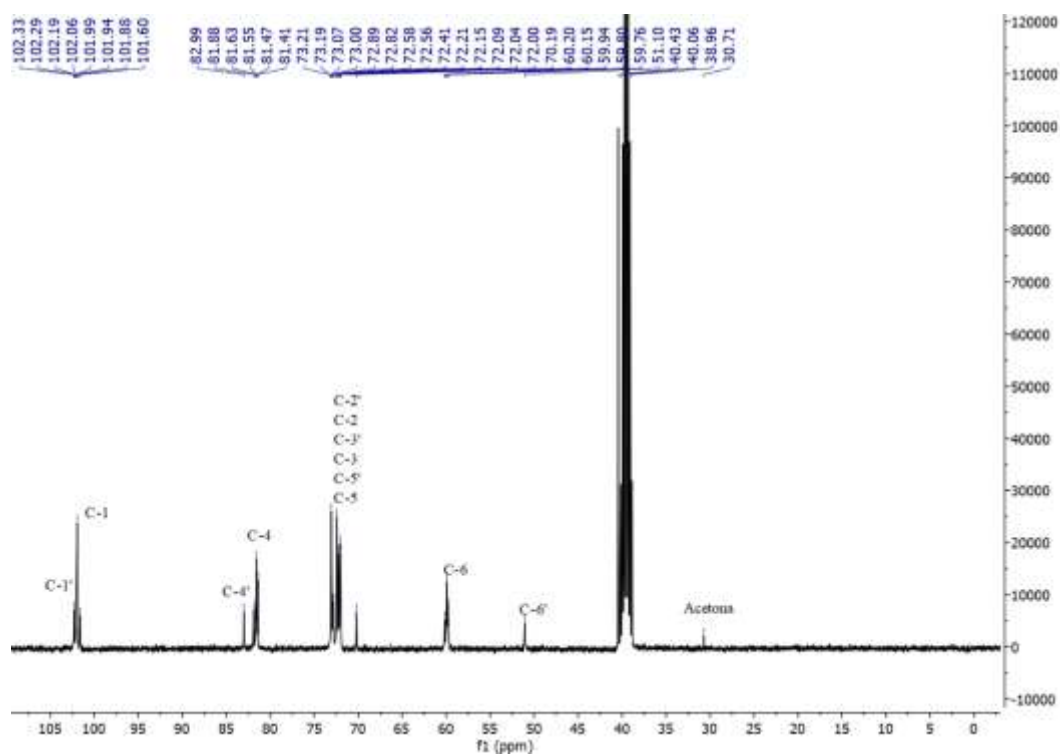
Espectro de ^{13}C de RMN (126 MHz, $\text{DMSO-}d_6$) de la mono-tosil- β -CD **15**.



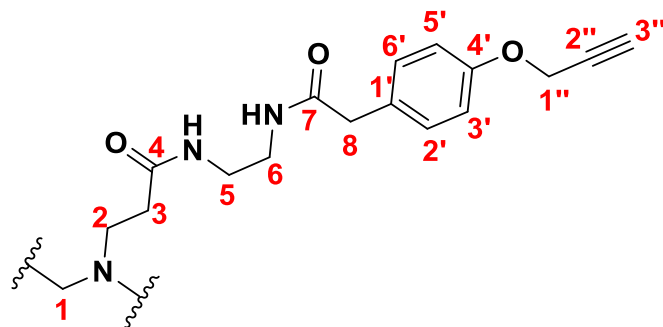
Asignación de la mono-azida- β -CD **16**



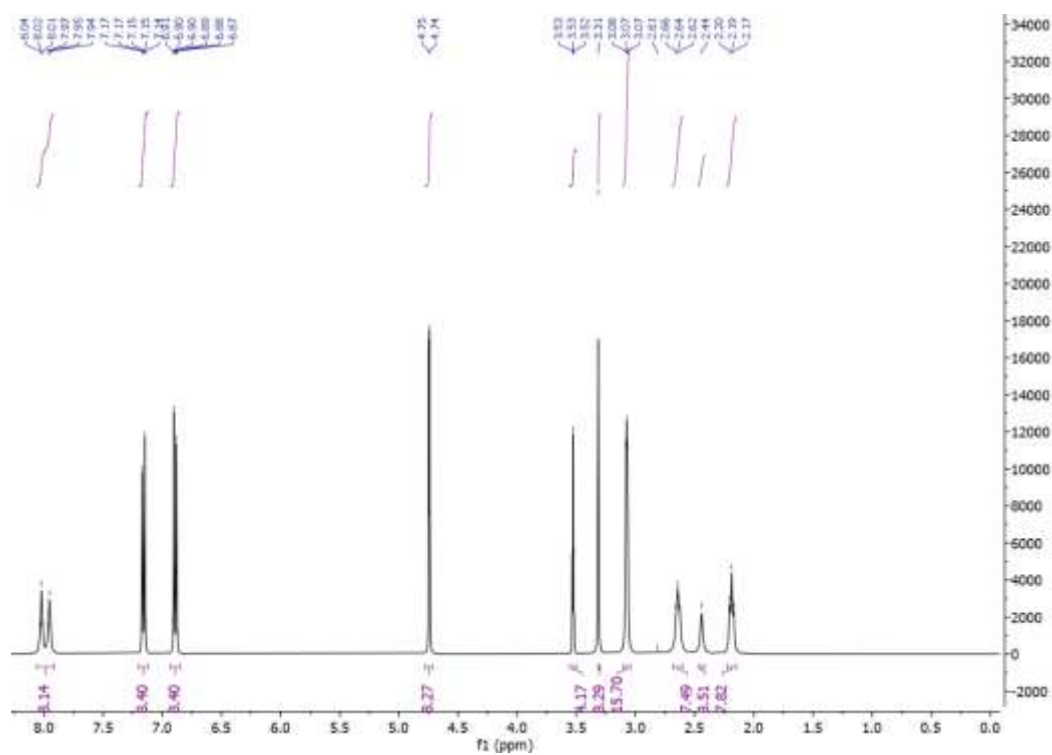
Espectro de ^1H de RMN (500 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) de la mono-azida- β -CD **16**.



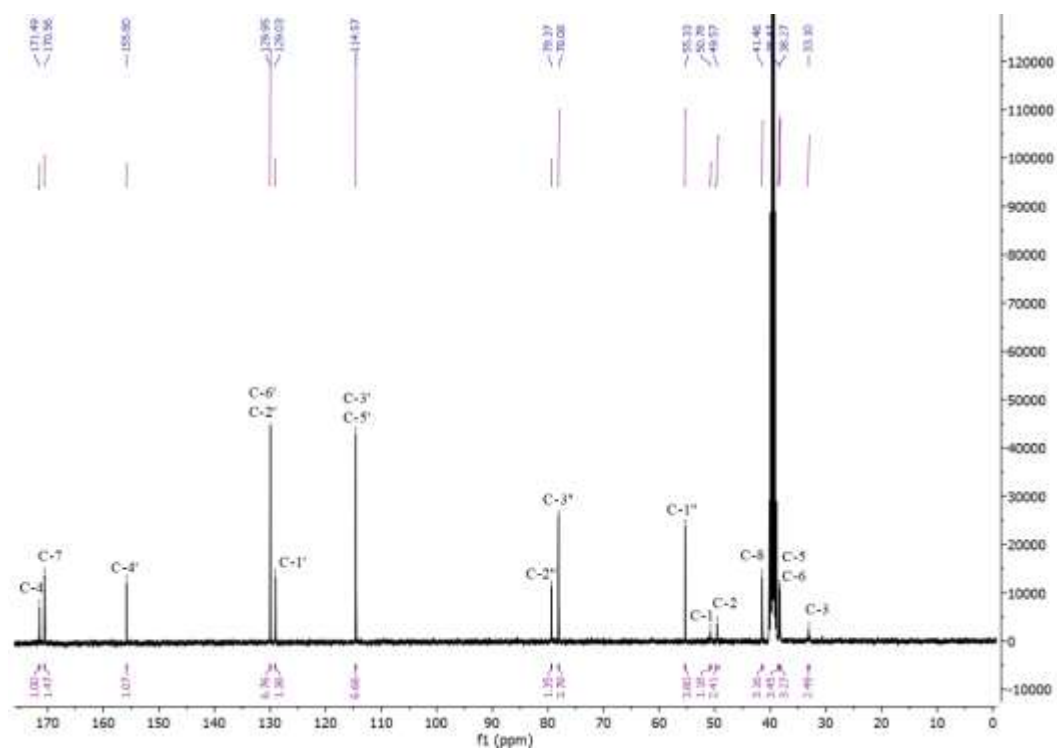
Espectro de ^{13}C de RMN (126 MHz, $\text{DMSO-}d_6$) de la mono-azida- β -CD 16.



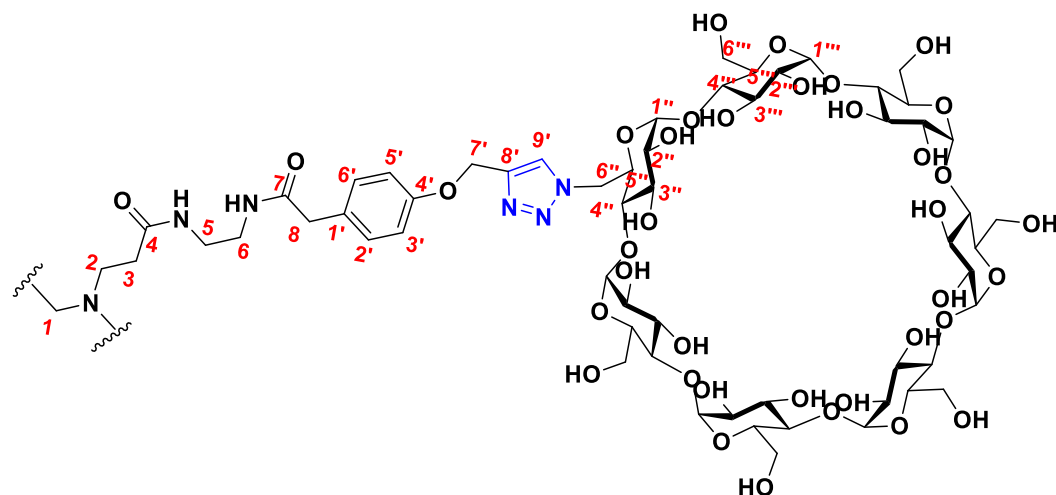
Asignación del PAMAM-tetra-alkyno terminal **18**.



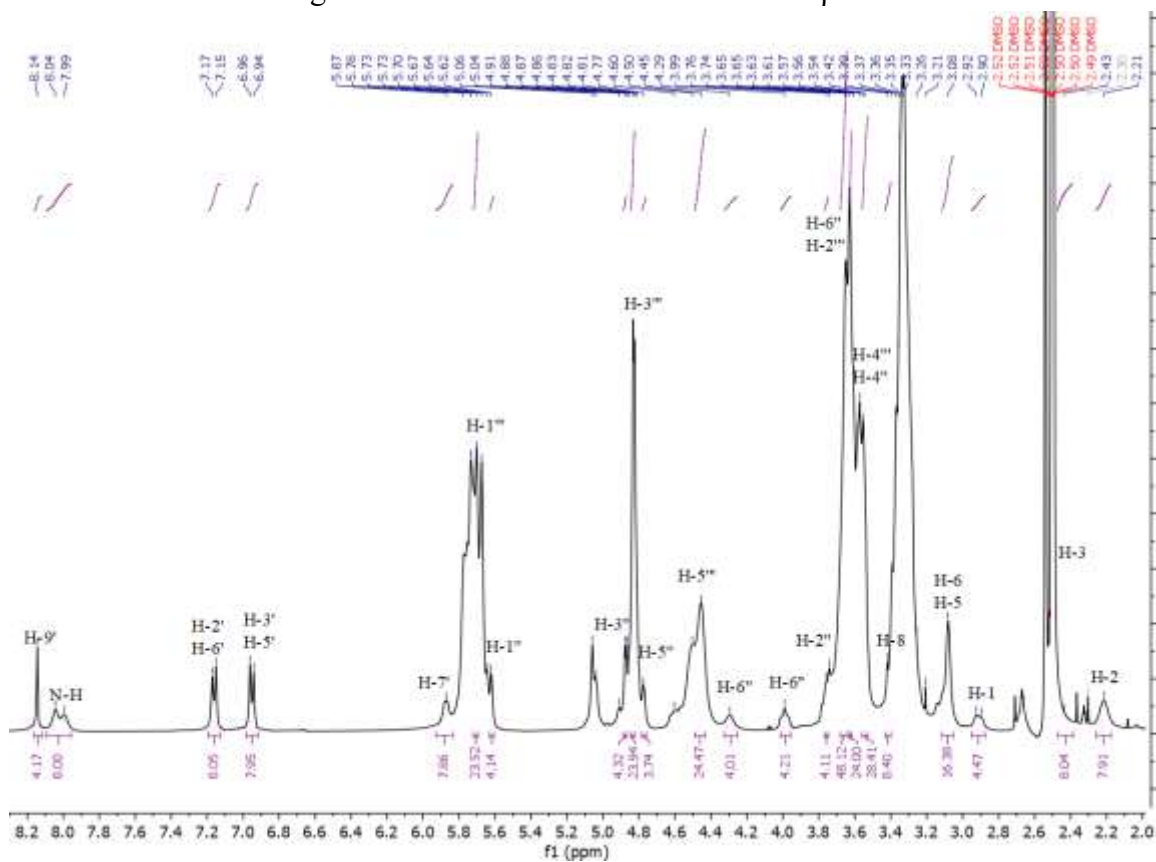
Espectro de ^1H de RMN (500 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) del PAMAM-tetra-alkyno terminal **18**.



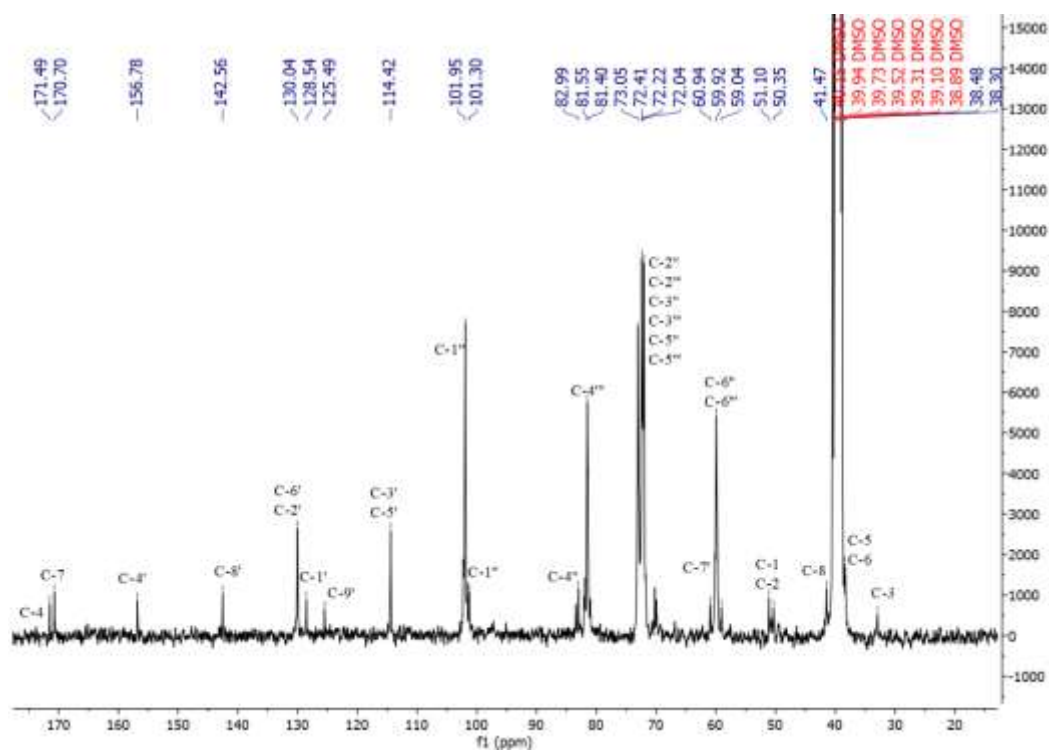
Espectro de ^{13}C de RMN (126 MHz, $\text{DMSO-}d_6$) PAMAM-tetra-alquino terminal **18**.



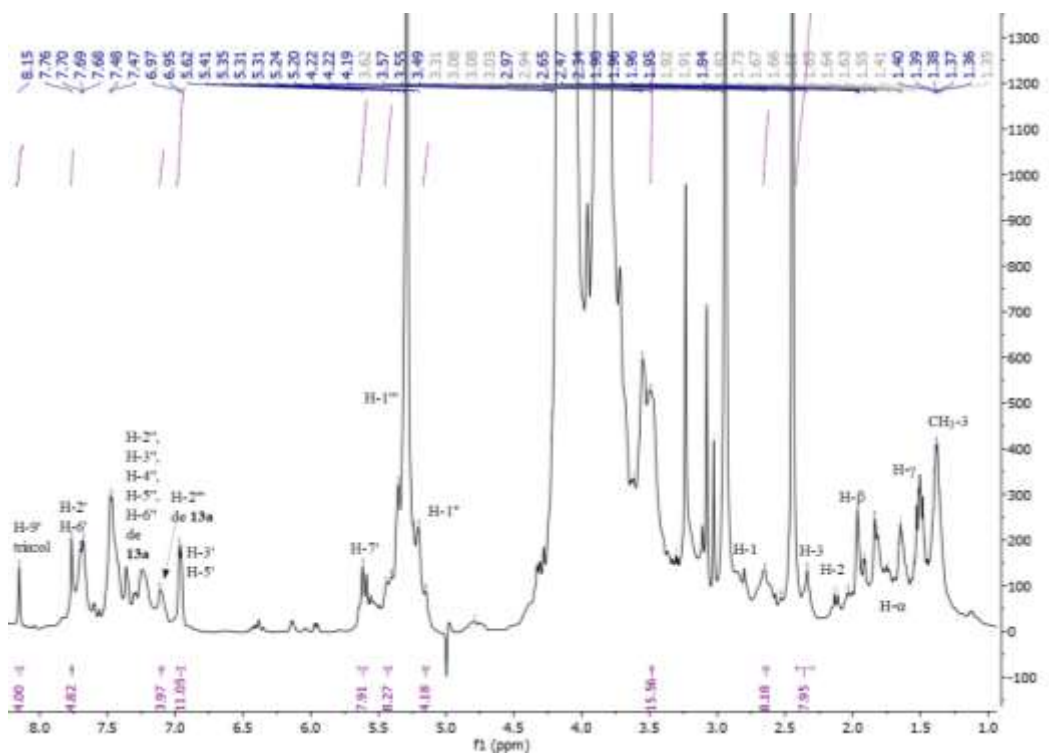
Asignación del dendrímero PAMAM-tetra-β-CD.



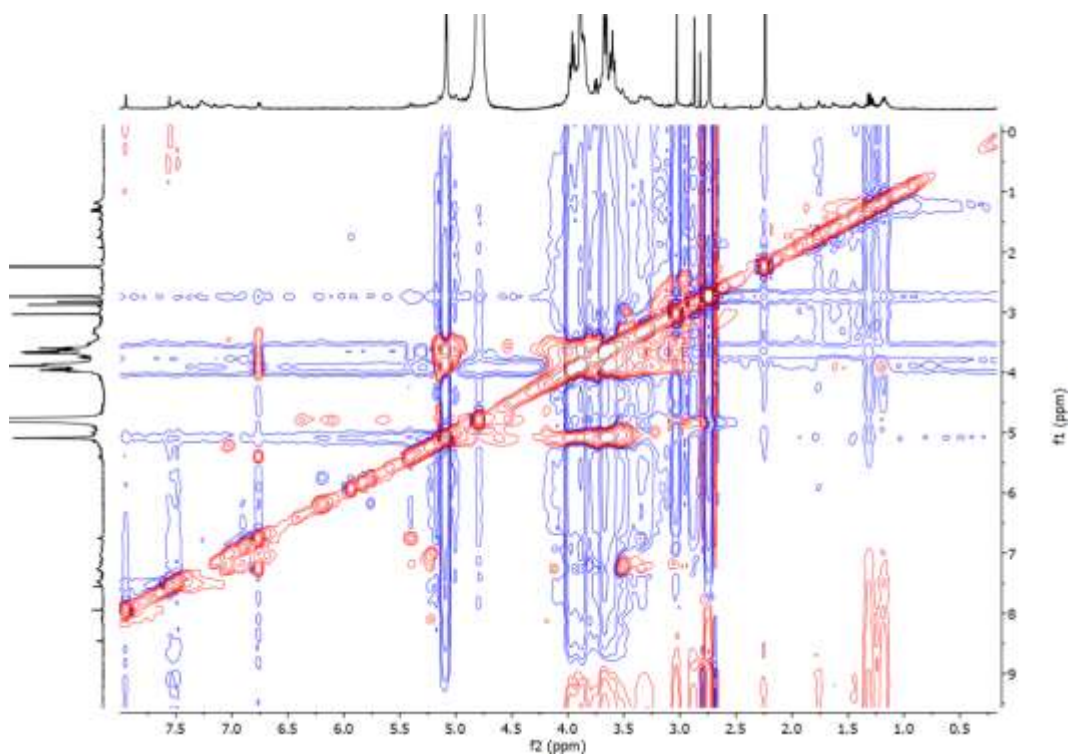
Espectro de ^1H de RMN (500 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) del PAMAM-tetra-β-CD.



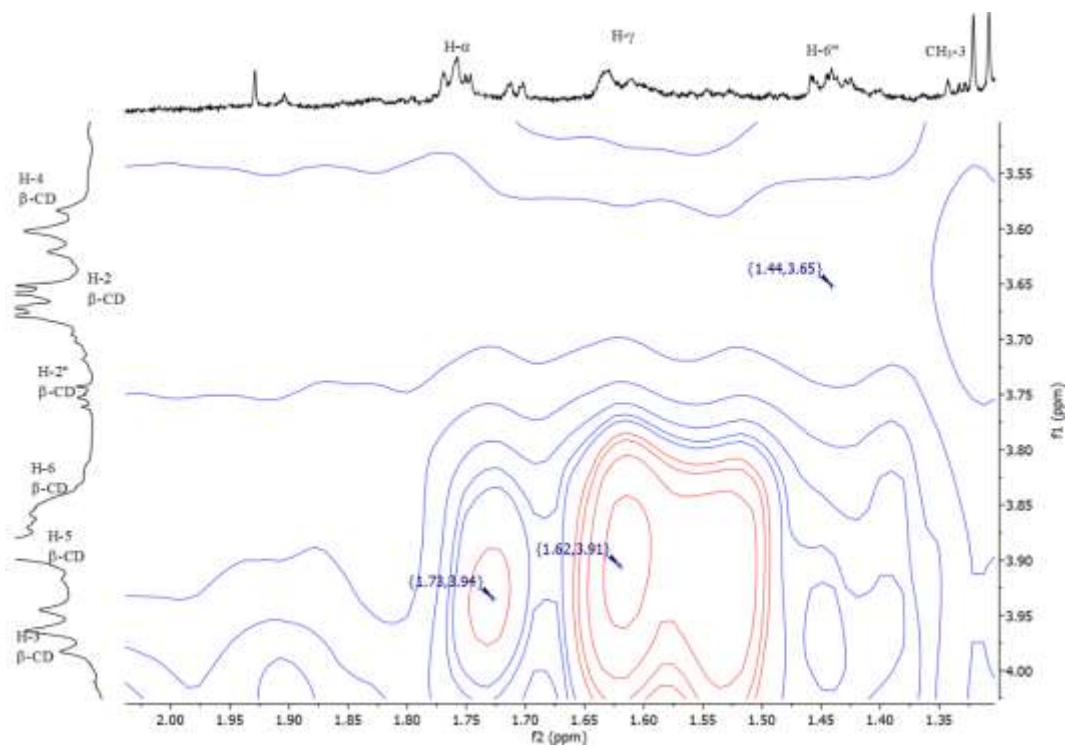
Espectro de ^{13}C de RMN (126 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) del PAMAM-tetra- β -CD.



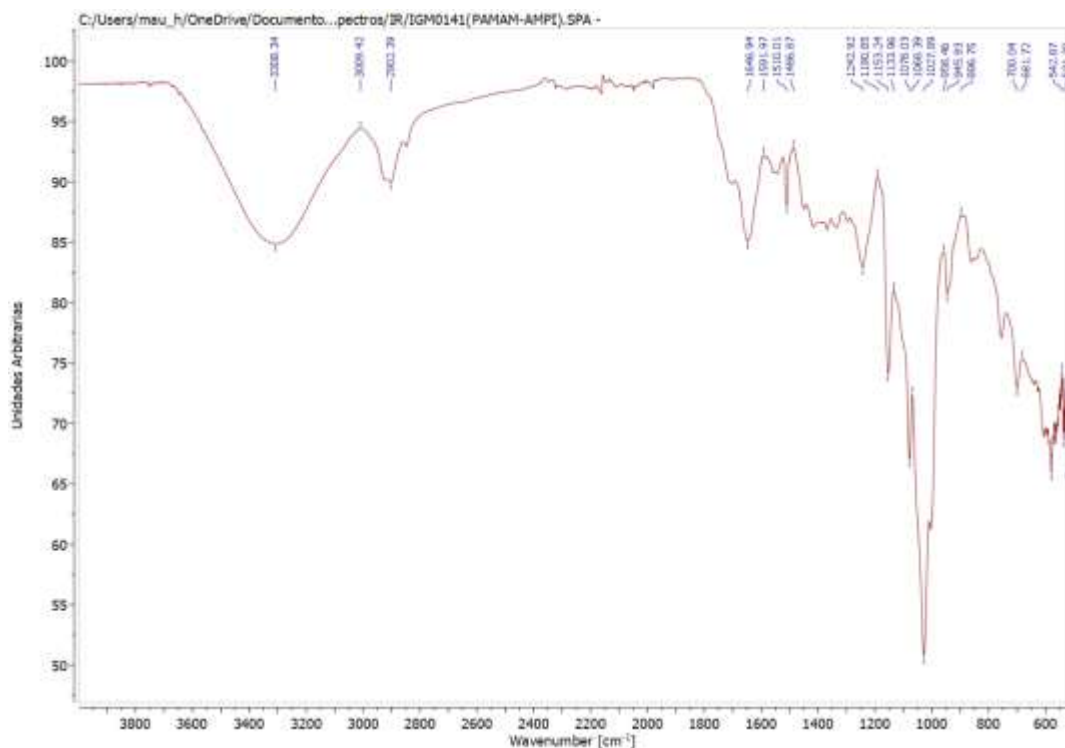
Espectro de ^1H de RMN (500 MHz, D_2O) del CI 19a.



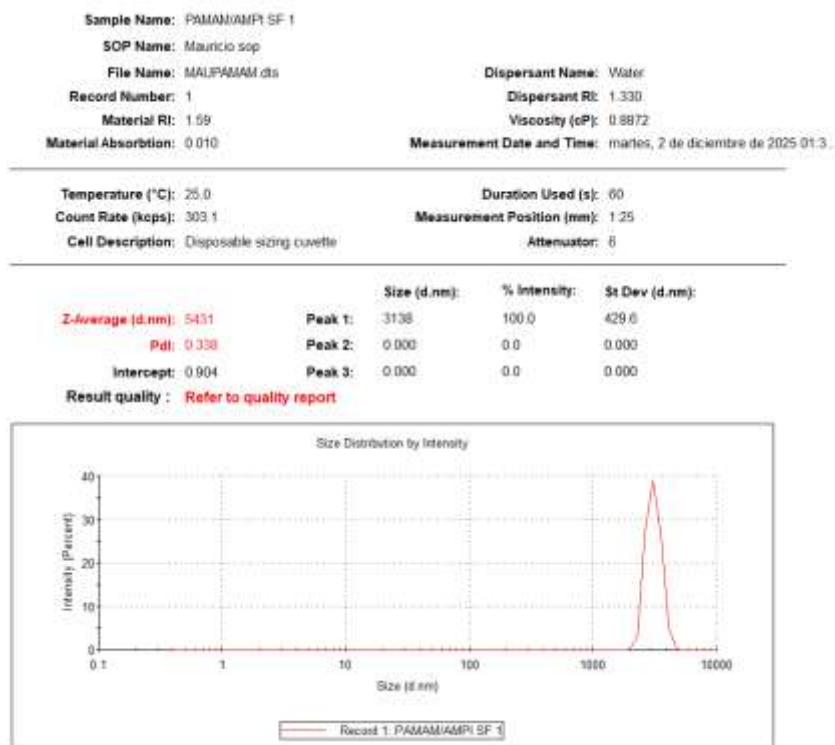
Espectro NOESY de RMN (500 MHz, D₂O) del CI **19a**.



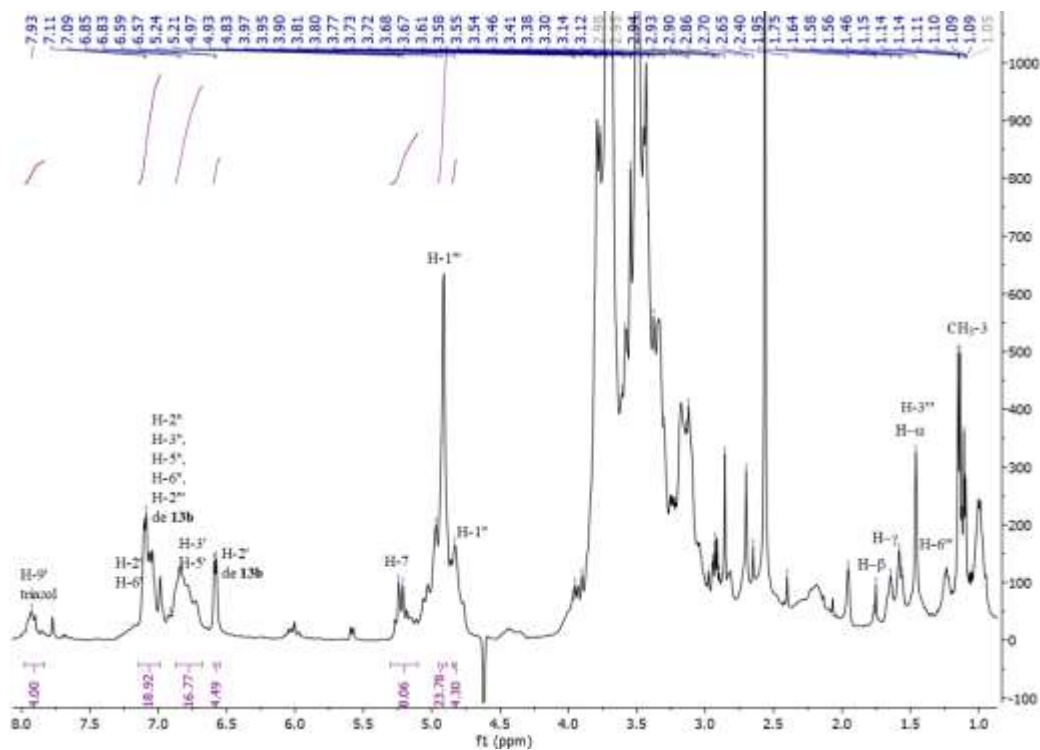
Ampliación de espectro NOESY de RMN (500 MHz, D₂O) del CI **19a**.



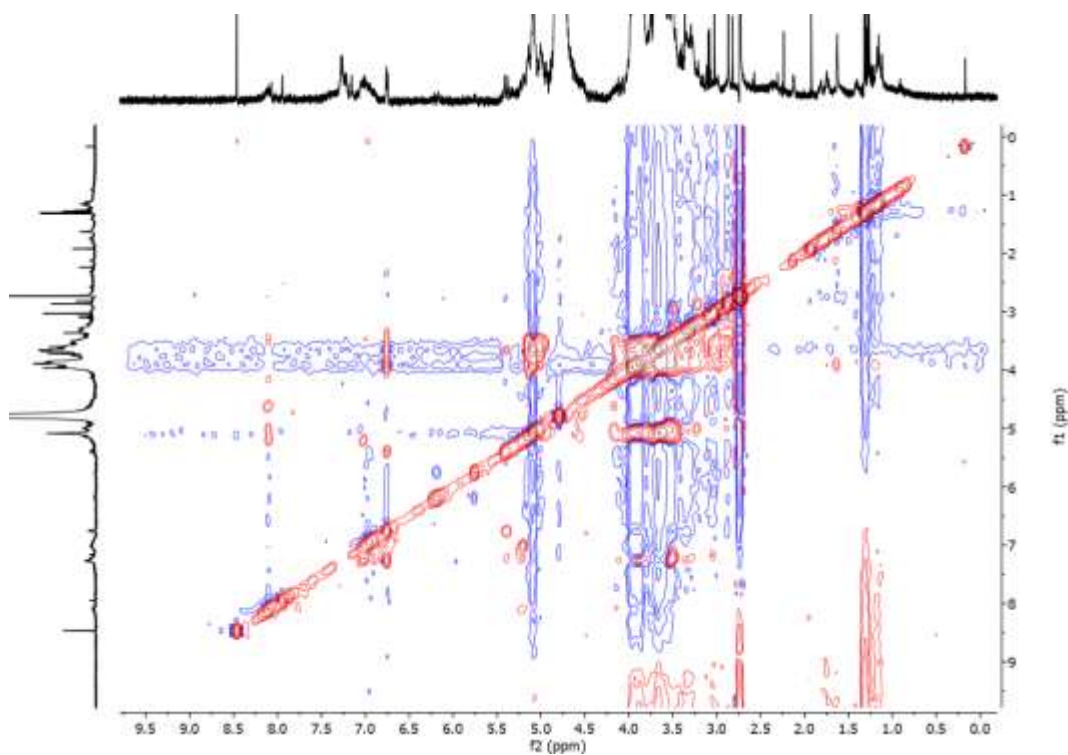
Espectro FTIR del CI 19a.



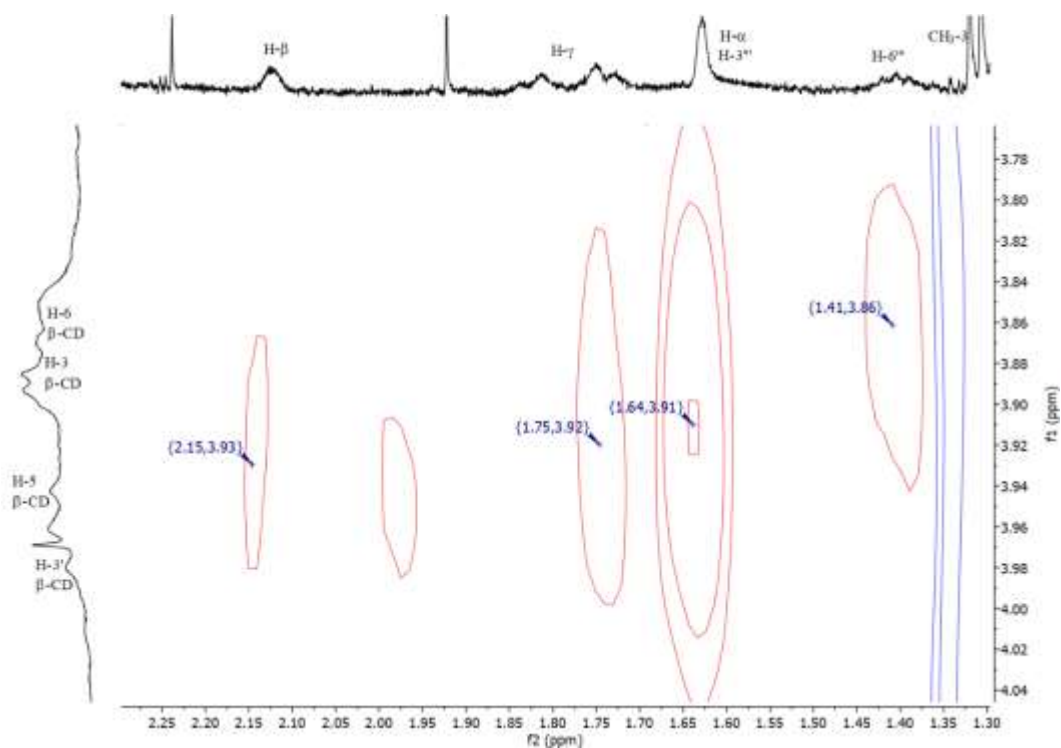
Espectro DLS del CI 19a.



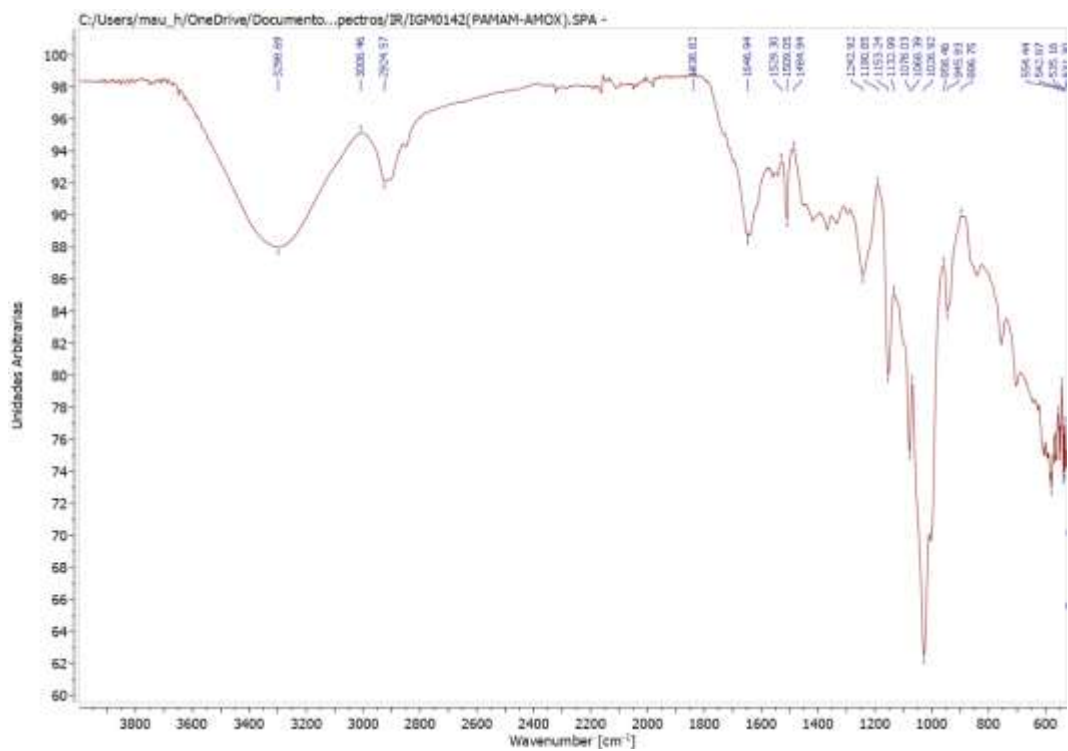
Espectro de ^1H de RMN (500 MHz, D_2O) del CI **19b**.



Espectro NOESY de RMN (500 MHz, D_2O) del CI **19b**.

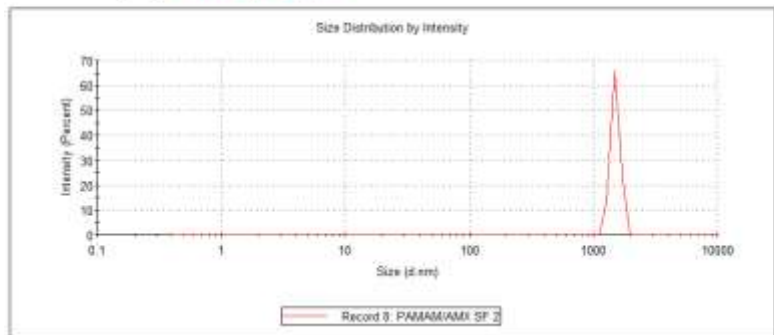


Ampliación de espectro NOESY de RMN (500 MHz, D₂O) del CI **19b**.

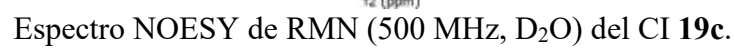
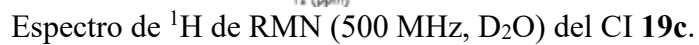


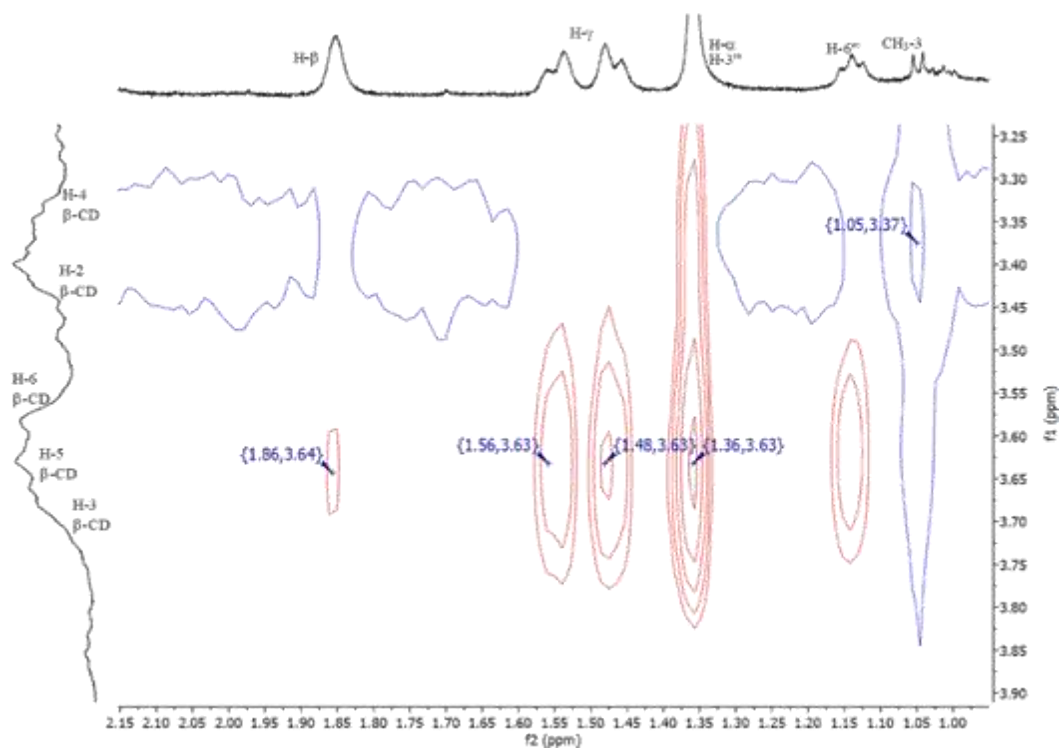
Espectro FTIR del CI **19b**.

Sample Name: PAMAM/MOX SF 2			
SOP Name: Mauricio sop			
File Name: MAUPAMAM dis		Dispersant Name: Water	
Record Number: 0		Dispersant RI: 1.330	
Material RI: 1.59		Viscosity (cP): 0.8872	
Material Absorption: 0.010		Measurement Date and Time: martes, 2 de diciembre de 2025 01:5	
Temperature (°C): 25.0		Duration Used (s): 60	
Count Rate (kcps): 134.7		Measurement Position (mm): 1.05	
Cell Description: Disposable sizing cuvette		Attenuator: 4	
		Size (d.nm):	% Intensity:
Z-Average (d.nm): 7640	Peak 1:	1508	100.0
PdI: 0.450	Peak 2:	0.000	0.0
Intercept: 0.886	Peak 3:	0.000	0.0
Result quality : Refer to quality report			

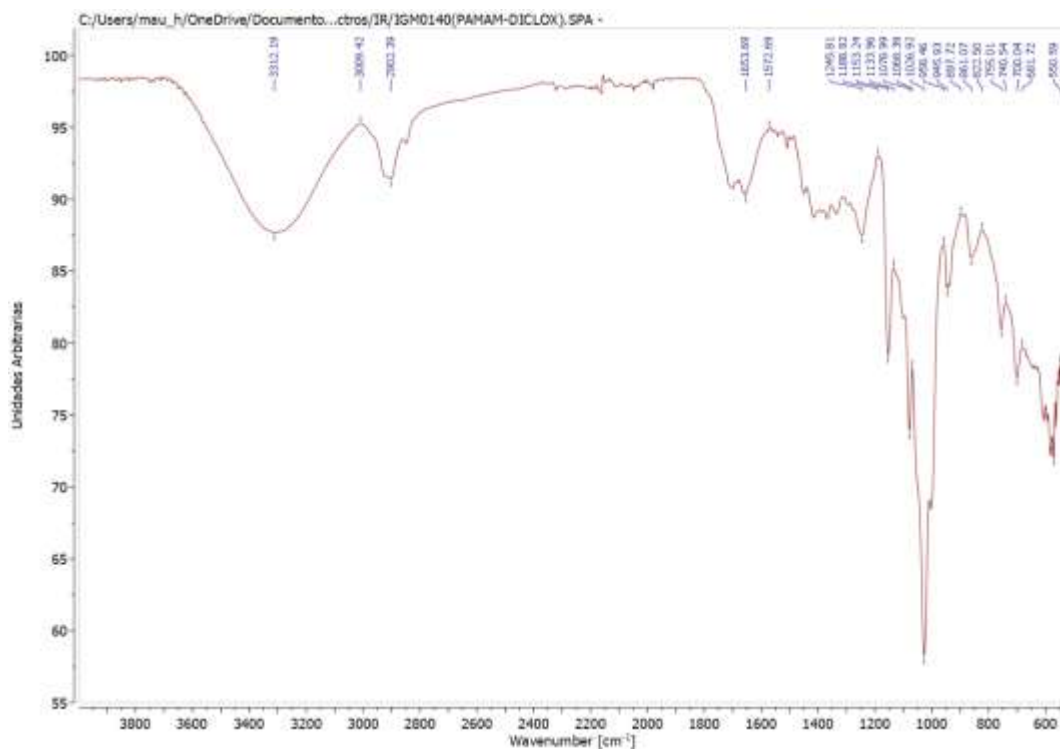


Espectro DLS del CI 19b.



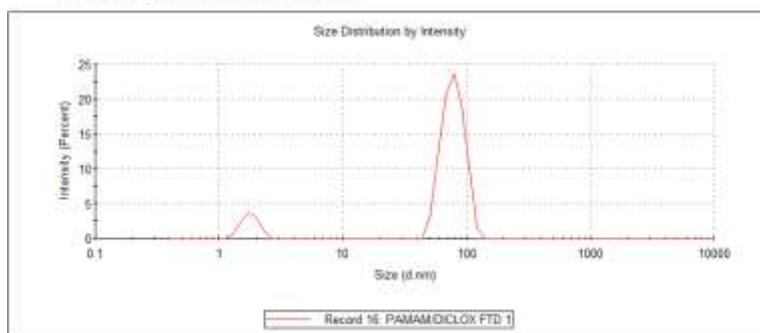


Ampliación de espectro NOESY de RMN (500 MHz, D₂O) del CI **19c**.



Espectro FTIR del CI **19c**.

Sample Name: PAMAM/DICLOX FTD 1			
SOP Name: Mauricio.sop			
File Name: MALPAMAM.dts		Dispersant Name: Water	
Record Number: 16		Dispersant RI: 1.330	
Material RI: 1.59		Viscosity (cP): 0.8872	
Material Absorption: 0.010		Measurement Date and Time: martes, 2 de diciembre de 2025 02:2	
Temperature (°C): 25.0		Duration Used (s): 60	
Count Rate (kops): 81.3		Measurement Position (mm): 4.85	
Cell Description: Disposable sizing cuvette		Attenuator: 11	
		Size (d.nm):	% Intensity: St Dev (d.nm):
Z-Average (d.nm): 229.8	Peak 1:	79.08	89.7 15.92
PdI: 0.279	Peak 2:	1.762	10.3 0.2665
Intercept: 0.715	Peak 3:	0.000	0.0 0.000
Result quality : Refer to quality report			



Espectro DLS del CI 19c.



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL
ESTADO DE MORELOS



Instituto de
Investigación en
Ciencias
Básicas y
Aplicadas



INSTITUTO DE INVESTIGACIÓN EN CIENCIAS BÁSICAS Y APLICADAS

POSGRADO EN CIENCIAS

Cuernavaca, Mor., a 17 de Julio de 2026

DRA. LINA ANDREA RIVILLAS ACEVEDO
COORDINADORA DEL POSGRADO EN CIENCIAS
PRESENTE

Atendiendo a la solicitud para emitir DICTAMEN sobre la revisión de la tesis titulada: "DISEÑO Y SÍNTESIS DE PROFÁRMACOS β -LACTÁMICOS Y SU ESTUDIO DE AUTOENSAMBLAJE EN UN DENDRÍMERO PAMAM" Presentada por el L.D.M.N.Q. Mauricio Galván Santoyo (10031939), para obtener el título de Maestro en Ciencias.

Dirección de tesis: Dr. Israel González Méndez

Codirector de tesis: Dra. Kendra Ivón Sorrosa Martínez

Unidad Académica: Instituto de Investigación en Ciencias Básicas y Aplicadas (IICBA)

Nos permitimos informarle que nuestro voto es:

NOMBRE	DICTAMEN
Dr. Juan Gabriel Navarrete Vázquez FF - UAEM	APROBADO
Dr. Jaime Escalante García CIQ - UAEM	APROBADO
Dr. Jesús Gracia Mora F.Q. - UNAM	APROBADO
Dr. Jorge Antonio Guerrero Álvarez CIQ - UAEM	APROBADO
Dra. Victoria Elena González Flores CIQ - UAEM	APROBADO



Av. Universidad 1001 Col. Chamilpa, Cuernavaca Morelos, México, 62209, Edificio 65
Tel. (777) 329 70 00, Ext. 6011 / posgradoenciencias@uaem.mx

UAEM
RECTORÍA
2023-2029



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL
ESTADO DE MORELOS

Se expide el presente documento con firma electrónica UAEM, soportada por el certificado vigente a la fecha de su elaboración y con efectos plenos de conformidad con los LINEAMIENTOS EN MATERIA DE FIRMA ELECTRÓNICA PARA LA UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL ESTADO DE MORELOS PUBLICADOS en el ÓRGANO INFORMATIVO UNIVERSITARIO "ADOLFO MENÉNDEZ SAMARÁ" número 117 de fecha 20 de abril de 2021.

Sello electrónico

VICTORIA ELENA GONZALEZ FLORES | Fecha:2026-07-17 11:53:11 | FIRMANTE

plCVaUL6sQPY/U6VXrgsmGT9XD5Yb1YJdIb5p5eNpLw7mPnW+4vwe8NP0d9i5gBVV/mG7jx+9+1J7OqnTilJUp1bFoVvftwr2n3dho2C89Q+PTFAM8BRQx4v8K6CBjD2rpF3gJ6EIS6AVIb+FwVWJ39zaCMsXEYXHCjGGGgGIEk1JEZ0Rq+em9fTFy+dw62YaH8Vx8BCINmvev9sNRGIEq8Bo7nvtORzkn6RZ0u+GqfBCxVhYcsNnN63hNWCImdEXxYqbdDV DGGPvoDqDQGmubp43agULN5byC/8AX8JXnUU6HN8ix9CLibZDRkEmIKAKQD5Em4U06xJvTlw==

JAIME ESCALANTE GARCIA | Fecha:2026-07-17 12:17:24 | FIRMANTE

OumxJMaPFBF9hrbFbyPKysyrehPgVtWKA5NNh7hgmq+UUAvg1O+gSXAoFBQPVwUgDg8z6D89cANkdSbaKEKMKVxX+F7xD12EoQmemLd4fSF+53RI6kQdOKymHSTSHd7q6CrdBqthMRZs9uCyA4CJkVVs+IW2XaXESXDjroFQp2HsgVWKBuW1Hlw5shPjWbTb7kdOHeduoERLpV9jeFEMNg23f8hOTJufetaMRKUYivdyRVi0TmEbvzFlamRb6dIShwL15JhV5+2uj7gY0la7V8dcjap6ssgzD0Yd+7Soe5t+VrdxNZnx5ZKxUWQVE5QND3C9GQ==

JORGE ANTONIO GUERRERO ALVAREZ | Fecha:2026-07-17 13:07:57 | FIRMANTE

pmxazXIZcsQIPWxrdk2Y46yPUsoeHGjuaDEy69muU3C3lvqJUTmp+FvNGrShUdhMaFVXFIS8RkRougtbAUxNs4QdbQp74LxTYik74tt51zrZkKp1/TBQGAqUMKKNgY+jgbkF x7GkelzImqXkhBjTb7S4aksRS3EKID0vjW4+13JvqGyUhs3HYmCaL YrEIQ5Os3P21t3ACmF+4nF8HQ7JS14kCE8NeamkCCiqDuKsx7eAVMd3P2QZJBYYUdiaXrZFhth8HX5vgpE3uDxcNoNrIxMknQIH3qsalb1ABUjhZYqBeLfUuITRtp5bAUrWfQ7JOUrx0Qerw==

JESÚS GRACIA MORA | Fecha:2026-07-18 05:49:13 | FIRMANTE

LjORZiD+czwLCLYFIK7kPN8Vr9LCvlnv2xOzCXTI885F4HELMGbYalFzgVHUAgf8uJ0VdmAnhoVDP0H7IEZdNy7H1geUvikjmFUIvbe7oJVV9EDVE1kRQmJWra9S9ywkP SmGHTIXskfOs3aLkP8hSklp+xfKroW7qslF1S9Qx9Rz4mxCzAxX1imZeQoDg4D8XlafUIH8RGLK7qKw5+Cy9MKgszpbXz57d7c6s+Itoc3TH0WZ2EwoCVWUk9L7gZd1RkCM8g09pxlEI+81fsP9H5odQE07SXGkNtLmJA7VhSWiOna8RCMXkUcUBzGOAy3HicRintOA==

JUAN GABRIEL NAVARRETE VAZQUEZ | Fecha:2026-07-18 22:46:45 | FIRMANTE

UEP5ADhYoMuthoc5wdjM8abc7Jo6/xa5En+qMdVZzoOwCclv9dhMVA3Pw32HL7AqFsUmbvV2gZxOVwq6sa/Mwa9ypo8l/9PgFamR3MgpDasPv4ew5XFEzzPAMuyqaDGO Kf+ra7e4xhwSFomobOmFmuUKB7Lu8pW9GUGYf53LUCIHfPmB4N1YBk26jPeOrRbSHZRO8uCqHKEFdmfzaX1v2VIDSJWL1udy9445oHoTXnyrN5g2mq996rw3IRVNu1ipXP0g0a2DYbESUDb2munj00i4+9IRryH8FVhdbjTk14Vsrli2i8UNoxPUBS852c4MMMA4Q==

Puede verificar la autenticidad del documento en la siguiente dirección electrónica o
escaneando el código QR ingresando la siguiente clave:



mdWIAshGU

<https://efirma.uaem.mx/noRepudio/EM1HHgtSCNxnRw8v9MD7r7rMly62GIO>



UAEM
RECTORÍA
2023-2029