

# QUÍMICA CLICK APLICADA A POLICARBONATOS CON POTENCIAL ACTIVIDAD ANTIMICROBIANA

TRABAJO DE FIN DE GRADO

**Sara Gómez Royo**

Grupo Cristales líquidos y Polímeros

Departamento de Química Orgánica

2021/2022

Tutores:

Luis Oriol Langa

Sara Bescós Ramo



## RESUMEN

### *Química click aplicada a polycarbonatos con potencial actividad antimicrobiana*

Los polycarbonatos alifáticos derivados del ácido 2,2-bis(hidroximetil)propiónico (bis-MPA) presentan un interés especial debido a que este ácido permite, por un lado, incluir funcionalidad mediante la incorporación de unidades laterales a través del grupo carboxilo y, por el otro, posibilita su ciclación gracias a los grupos hidroxilo, formando así carbonatos cíclicos de fácil polimerización. Además, los polycarbonatos alifáticos obtenidos son degradables y suelen presentar buena biocompatibilidad.

En este trabajo se preparan polycarbonatos mediante polimerización controlada por apertura de anillo de carbonatos cíclicos derivados de bis-MPA con grupos propargilo laterales. La posterior funcionalización de los polímeros obtenidos se realiza mediante una reacción tiol-ino, típica de la denominada química click. Se ha elegido como tioles funcionales, derivados de guanidina con el objetivo de preparar macromoléculas con diferentes porcentajes de estas unidades, ya que para polímeros análogos con estos grupos se han descrito propiedades antimicrobianas.

Las tareas realizadas han sido la síntesis del carbonato cíclico utilizado como monómero, la síntesis de tioles con grupos guanidina y la polimerización del monómero para obtener una plataforma polimérica. Su posterior funcionalización por reacción click tiol-ino con tioles de guanidina combinados con fenilmetanotiol ha dado lugar a tres series de polímeros con diferente hidrofobicidad y porcentaje de grupos guanidinio. Todos los materiales han sido adecuadamente caracterizados y se ha estudiado su agregación en agua. Las propiedades antimicrobianas se están estudiando en colaboración con el grupo del Prof. M. Arruebo.

## ABSTRACT

### *Click chemistry applied to polycarbonates with potential antimicrobial activity*

Aliphatic polycarbonates derived from bis-MPA are of especial interest because this molecule allows to include functionality by incorporating side units onto its carboxyl group and, moreover, its hydroxyl groups enable their cyclation to obtain cyclic carbonates that can be easily used as monomers. In addition, the resultant aliphatic polycarbonates are degradable and usually have good biocompatibility.

In this project polycarbonates are synthesized through the controlled Ring-Opening Polymerization (ROP) of bis-MPA-derived cyclic carbonates with propargyl side groups. The subsequent functionalization of the polymer is carried out by means of a thiol-yne reaction, typical of the so-called click chemistry. Guanidine derivatives have been chosen as functional thiols with the aim of preparing macromolecules with different percentages of these units, since antimicrobial properties have been described for analogous polymers.

To this end, the synthesis of both the cyclic carbonate used as monomer and the thiols with guanidine groups has been carried out, as well as the polymerization of the monomer. Its functionalization by the click thiol-yne reaction with guanidine thiols combined with phenylmethanethiol has given rise to three series of polymers with different hydrophobicity and percentage of guanidinium groups. All the materials have been adequately characterized and their aggregation in water has been also studied. The antimicrobial properties are currently under study in collaboration with the group of Prof. M. Arruebo.

## ABREVIATURAS

AcOEt: acetato de etilo

AcOH: ácido acético

BHT: butilhidroxitolueno

bis-MPA: ácido 2,2-bis(hidroximetil)propiónico

CDI: 1,1- carbonildiimidazol

DBU: 1,8-diazabicyclo[5.4.0]undec-7-eno

DCM: diclorometano

DIPEA: *N,N*-diisopropiletilamina

DLS: *dynamic light scattering* (dispersión dinámica de luz)

DMF: *N,N*-dimetilformamida

DP: *degree of polymerization* (grado de polimerización)

DTT: ditionitrosol

MeCN: acetonitrilo

MeOH: metanol

RMN: Resonancia Magnética Nuclear

ROP: *ring-opening polymerization* (polimerización por apertura de anillo)

RT: temperatura ambiente

TBD: 1,5,7-triazabicyclo[4.4.0]dec-5-eno

TEA: trietilamina

TEM: *transmission electron microscopy* (microscopía electrónica de transmisión)

THF: tetrahidrofurano

TU: 1-(3,5-bis(trifluorometil)fenil-3-ciclohexil-2-tiourea)

# ÍNDICE

<b>1. INTRODUCCIÓN</b>	1
1.1. Polímeros y biodegradabilidad	1
1.2. Policarbonatos alifáticos y su síntesis mediante polimerización por apertura de anillo	2
1.3. Funcionalización de polímeros	3
1.4. Policarbonatos antimicrobianos	5
<b>2. OBJETIVOS Y PLANTEAMIENTO DEL TRABAJO</b>	6
<b>3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN</b>	8
3.1. Síntesis del carbonato cíclico usado como monómero (MPC)	8
3.2. Síntesis del policarbonato con grupos propargilo laterales (P(MPC))	8
3.3. Síntesis del derivado de guanidina con grupo tiol (GBoc-SH)	11
3.4. Funcionalización de P(MPC)	12
3.5. Formación de agregados en agua y estudio de su tamaño y morfología	17
<b>4. PARTE EXPERIMENTAL</b>	18
4.1. Síntesis y caracterización del éster precursor: 2,2-bis(hidroximetil)propionato de propargilo	18
4.2. Síntesis y caracterización de 5-metil-5-propargiloxycarbonil-1,3-dioxano-2-ona (MPC)	19
4.3. Síntesis y caracterización de P(MPC)	19
4.4. Síntesis y caracterización de bis(1,1-dimetiletilo)3,12-bis([(1,1-dimetiletoxi) carbonil]amino)-7,8-ditio-2,4,11,13-tetraazatetradeca-3,11-dieno-1,14dioato (Di-(GBoc-SH))	19
4.5. Síntesis y caracterización de 2-mercaptoetilguanidina (GBoc-SH)	20
4.6. Síntesis y caracterización de P(MPC)-GBoc	20
4.7. Síntesis y caracterización de P(MPC)-G	20
4.8. Síntesis y caracterización de P(MPC)-GBoc <sub>0.75</sub> -st-Bn <sub>0.25</sub>	20
4.9. Síntesis y caracterización de P(MPC)-G <sub>0.75</sub> -st-Bn <sub>0.25</sub>	21
4.10. Síntesis y caracterización de P(MPC)-GBoc <sub>0.5</sub> -st-Bn <sub>0.5</sub>	21
4.11. Síntesis y caracterización de P(MPC)-G <sub>0.5</sub> -st-Bn <sub>0.5</sub>	21
<b>5. CONCLUSIONES</b>	22
<b>6. BIBLIOGRAFÍA</b>	23
<b>ANEXOS</b>	26
ANEXO A: Espectros <sup>1</sup> H-RMN, <sup>19</sup> F-RMN, <sup>13</sup> C-RMN, FTIR	26
ANEXO B: Curvas de GPC	40
ANEXO C: TEM	42
ANEXO D: TÉCNICAS Y EQUIPOS EMPLEADOS	43

# 1. INTRODUCCIÓN

## 1.1. Polímeros y biodegradabilidad

Los polímeros son macromoléculas con simplicidad estructural cuya estructura química está formada por unidades menores que se repiten sucesivamente en la cadena (unidad repetitiva) y cuyos átomos están unidos mediante enlaces covalentes. Su síntesis se realiza mediante reacciones de polimerización, como la ejemplificada en la Figura 1.1, donde  $n$  es el grado de polimerización y representa el número medio de unidades repetitivas en la cadena.<sup>1</sup>

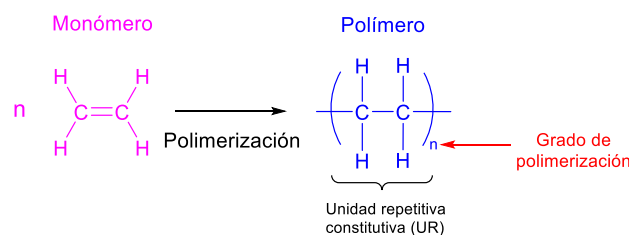


Figura 1.1: Ejemplo reacción de polimerización del etileno

Los polímeros se pueden clasificar, por ejemplo, en función de su origen (naturales, semisintéticos y sintéticos), su estructura (lineales, ramificados, entrecruzados y reticulados), su composición (homopolímeros y copolímeros) y su estabilidad (bioestables y degradables).<sup>1,2</sup>

En función de la composición se pueden clasificar en (Figura 1.2):

- Homopolímeros: son polímeros compuestos por solo un tipo de unidad repetitiva.
- Copolímeros: son polímeros compuestos por dos o más tipos diferentes de unidades repetitivas y, dependiendo de su disposición en la cadena, se diferencian en copolímeros estadísticos, alternados, en bloque o de injerto, para los casos más sencillos.

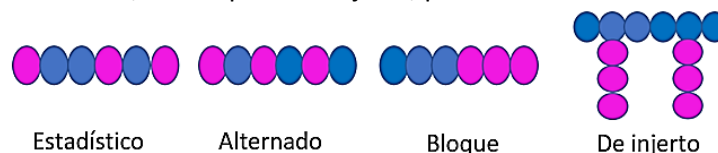


Figura 1.2 Algunos tipos de copolímeros con dos unidades repetitivas diferentes <sup>1,2</sup>

En cuanto a la estabilidad de los polímeros, se trata de uno de los problemas que se achacan a estos materiales (debido al volumen de sus residuos), que hace que perduren en el medio ambiente durante largos períodos de tiempo. Sin embargo, los denominados degradables son aquellos que experimentan la destrucción gradual de su cadena mediante diferentes procesos, ya sean estrictamente biológicos o en condiciones ambientales como resultado, por ejemplo, de su hidrólisis. Dentro de esta clasificación, los llamados biodegradables se definen, según la *American Society for Testing and Materials* (ASTM), como aquellos que sufren degradación biológica por microorganismos naturales.<sup>3</sup> No obstante, por extensión suele hablarse de biodegradables cuando experimentan una degradación en contacto con cualquier organismo. Así, para el caso de polímeros empleados en medicina, se diferencia entre bioestables, que son los que mantienen la funcionalidad en el medio fisiológico durante largos períodos de tiempo, y biodegradables, que la mantienen por un tiempo limitado.<sup>4</sup> Cabe destacar la importancia de la biodegradabilidad, ya que la eliminación del polímero de forma natural tras haber realizado su papel permite recuperar la funcionalidad de los sistemas fisiológicos.

A pesar de las ventajas ya mencionadas, estos materiales tienen una serie de requisitos necesarios, como que tanto los reactivos de partida como los productos de degradación deben ser inertes. Debido a que escasos materiales naturales cumplen todos los requisitos, así como la necesidad de ampliar su aplicación, se han desarrollado una gran variedad de macromoléculas biodegradables sintéticas, con grupos funcionales sensibles a la hidrólisis, como son las unidades carbonato, uretano, éster o anhídrido. En el caso de este proyecto, se van a emplear los policarbonatos alifáticos como polímeros degradables a estudiar.<sup>5,6</sup>

## 1.2. Policarbonatos alifáticos y su síntesis mediante polimerización por apertura de anillo

Los policarbonatos alifáticos (APCs) se definen como polímeros, de estructura alifática, que tienen enlaces carbonatos entre las unidades repetitivas [-O-C(O)-O]. El interés de estos materiales es debido a que poseen una excelente biocompatibilidad, se degradan en medios fisiológicos y sus productos de degradación no presentan toxicidad. Además, a diferencia de los poliésteres alifáticos, los cuales son también biodegradables, tienen la ventaja de que no alteran las condiciones de acidez del medio fisiológico al degradarse.<sup>4,7</sup>

Para su síntesis se pueden diferenciar diversas técnicas de polimerización (Figura 1.3): la policondensación entre un diol alifático con dialquilcarbonato (a), la copolimerización de CO<sub>2</sub> con epóxidos (b) y la polimerización por apertura de anillo (ROP) usando carbonatos cíclicos como monómeros (c).<sup>8</sup>

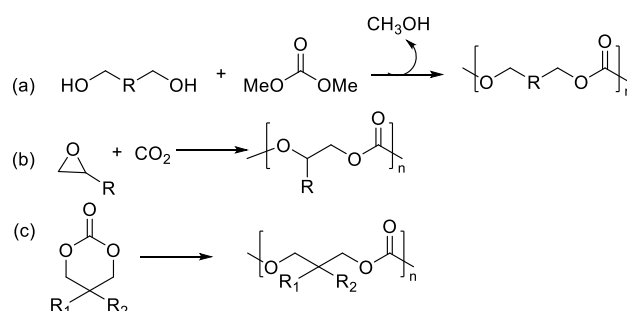


Figura 1.3: Métodos de obtención de APCs <sup>8</sup>

La policondensación presenta un bajo control sobre la masa molecular y la dispersidad, y la copolimerización de epóxidos con CO<sub>2</sub> está limitada a usar catalizadores metálicos, y no siempre con un buen control estructural. Por eso la polimerización por apertura de anillo (ROP) es el método más usado para sintetizar policarbonatos,<sup>8</sup> ya que tiene una buena reproducibilidad y control de la masa molecular y la dispersidad, permitiendo así la síntesis de polímeros degradables con propiedades específicas y controlables. Para llevarse a cabo, los monómeros deben ser anillos de 3 a 8 miembros, de modo que sea la pérdida de entalpía asociada al alivio de la tensión de anillo, en combinación con consideraciones estéricas, la fuerza impulsora que dé lugar a la polimerización.<sup>9</sup>

Para la polimerización tipo ROP, es común el empleo del 2-etilhexanoato de estaño como catalizador.<sup>10</sup> Sin embargo, dado que los compuestos de Sn presentan toxicidad y es difícil su eliminación de los productos poliméricos obtenidos, se buscan catalizadores menos tóxicos, como son los organocatalizadores.<sup>11</sup>

Se emplean como sistemas organocatalíticos compuestos orgánicos basados en interacciones tipo puente de hidrógeno, que permiten conseguir altas selectividades y distribuciones estrechas.<sup>12</sup> Entre

los diferentes tipos de organocatalizadores, las bases como 1,8-diazabicyclo[5.4.0]undec-7-eno (DBU) o 1,5,7-triazabicyclo[4.4.0]dec-5-eno (TBD), promueven la activación del alcohol utilizado como iniciador aumentando su nucleofilia, tal y como se muestra en la Figura 1.4. Además, también es posible utilizar un sistema catalítico bifuncional adicionando, además de alguna de las bases mencionados, catalizadores como 1-(3,5-bis(trifluorometil)fenil-3-ciclohexil-2-tiourea) (TU), que también actúa mediante puentes de hidrógeno, esta vez aumentando la electrofilia y activando el grupo carbonilo del monómero, facilitando así el ataque del iniciador.<sup>13</sup> Tras la reacción de sustitución nucleófila en el grupo acilo, en la que el alcohol ataca al carbonato cíclico dando lugar a la apertura del ciclo, el grupo hidroxilo terminal resultante es activado para atacar a otra molécula de monómero, repitiendo el proceso catalítico. La terminación de la reacción se produce por protonación de la base (DBU, en el caso de la figura 1.4) con ácido benzoico.<sup>11</sup>

En el caso de monómeros formados por carbonatos cíclicos de 6 miembros como los derivados de ácido 2,2-bis(hidroximetil)propiónico (bis-MPA), el sistema organocatalítico DBU/TU es el que proporciona una polimerización más controlada y en condiciones suaves. Por otro lado, el TBD, aunque presente mayor actividad, también produce mayor dispersidad.<sup>14</sup>

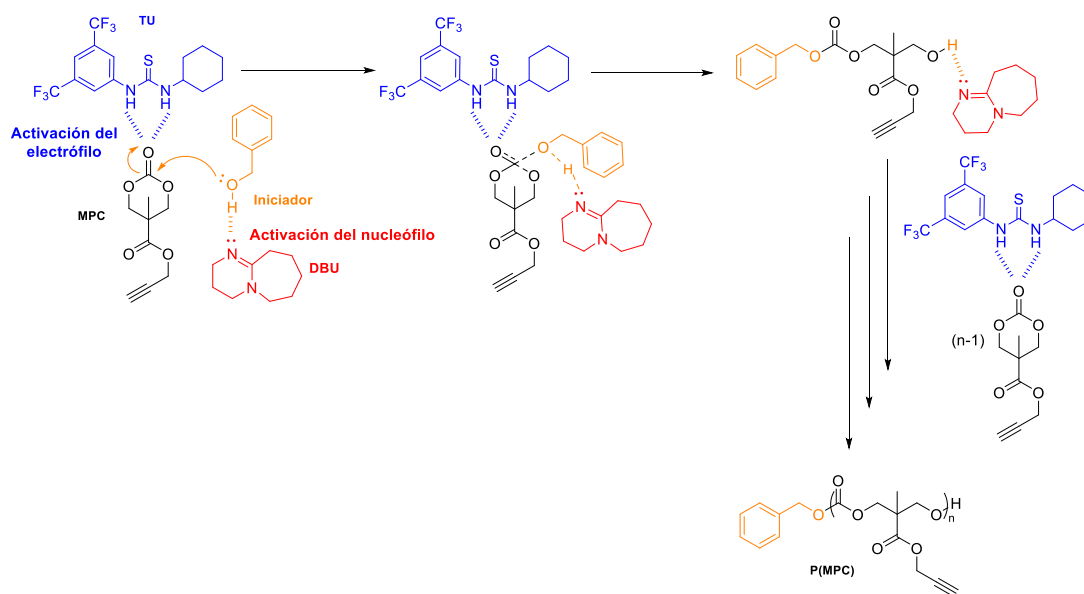


Figura 1.4: Mecanismo de polimerización por apertura de anillo (ROP) del monómero MPC. Adaptado de la referencia<sup>11</sup>

### 1.3. Funcionalización de polímeros

La importancia de usar carbonatos cíclicos derivados de bis-MPA como precursores se debe a que permite, por un lado, incorporar funcionalidad a través del grupo carboxilo y, por otro lado, su ciclación y formación del carbonato a partir de su diol. Así, existen en la literatura una gran variedad de monómeros cíclicos derivados del bis-MPA con diferentes grupos (alilo, propargilo, azida, etc.) que cuelgan del ciclo y que permiten posteriormente, mediante reacciones de post-polimerización, la funcionalización a demanda del policarbonato final.<sup>15-17</sup> Entre las reacciones de funcionalización, en los últimos años han ganado terreno las englobadas en la denominada química “click”.

El concepto de química click se introduce en 2001 por Sharpless y desde entonces el empleo estas reacciones (que ya estaban previamente descritas) han tenido amplia aplicación en ciencia de materiales y polímeros en particular.<sup>18</sup> Esto es debido a que posibilitan obtener variedad de

materiales a partir de precursores más simples, de manera selectiva, con una amplia tolerancia a multitud de grupos funcionales, buenos rendimientos, en condiciones de reacción sencillas y en general con una cinética de reacción rápida y fácil purificación.

Como se observa en la Figura 1.5, gracias a estas características se pueden crear sistemas poliméricos para diversas aplicaciones biomédicas como la liberación controlada de fármacos y su posible conjugación, en bioimagen, o su uso como antimicrobianos.<sup>15</sup>

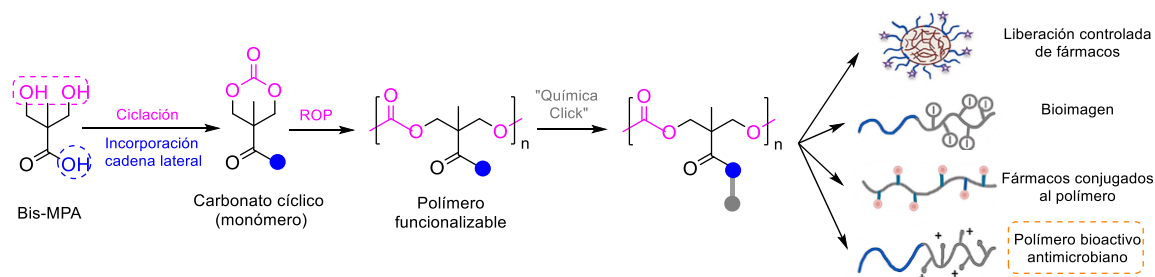


Figura 1.5 Diseño de policarbonatos biodegradables funcionalizables<sup>15,16</sup>

Se conocen varios tipos de reacciones de química click, entre ellas la cicloadición [3+2] de alquino-azida catalizada por Cu(I) (CuAAC) ampliamente utilizada en ciencia de materiales, la reacción de Diels-Adler, las adiciones de Michael y las reacciones de tipo tiol-eno y tiol-ino.<sup>18</sup> En el caso de la reacción tiol-ino, complementaria a la CuAAC ya que en ambas se parte de precursores alquino, presenta diversas ventajas, como que evita el uso de metales (ya que no necesita de catalizadores) empleando luz para iniciar el proceso, y permite la introducción de dos unidades funcionales en la misma unidad repetitiva.<sup>19</sup>

Esta reacción tiene lugar en varios pasos consecutivos (Figura 1.6), que permiten la obtención selectiva del producto de adición 1,2, introduciendo así dos unidades ligadas a ambos carbonos del alquino de partida. En primer lugar, preferentemente a partir de un fotoiniciador, se genera la fuente primaria de radicales tiilo R-S• que, en presencia de un alquino, produce la adición del radical al triple enlace obteniendo un radical viniltioéter (paso 1). Tras esto tiene lugar la transferencia de cadena (paso 2) con un tiol adicional obteniendo el intermedio de viniltioéter (A), que es muy reactivo y reacciona con los radicales tiilo (paso 3) para formar un radical intermedio, que tras una segunda reacción de transferencia de cadena (paso 4), se obtiene el producto de adición 1,2 deseado (B).<sup>19,20</sup>

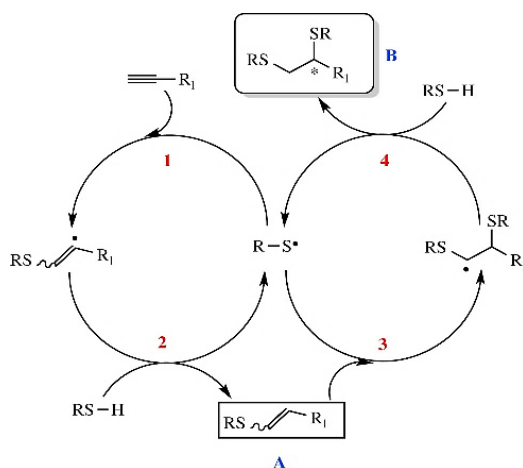


Figura 1.6: Mecanismo de la reacción tiol-ino<sup>20</sup>

#### 1.4. Policarbonatos antimicrobianos

Entre las posibles funcionalidades que se pueden introducir en polímeros para que tengan propiedades de interés en el ámbito de la Salud, destaca la necesidad de preparar polímeros antimicrobianos. Esto es debido al gran problema actualmente en expansión producido por la resistencia a los antibióticos, la cual la OMS describe como una de las más graves amenazas para la Salud y el desarrollo mundial, requiriendo medidas urgentes.<sup>21,22</sup>

Esto explica que se propongan diferentes tipos de polímeros sintéticos degradables que imiten a los péptidos antimicrobianos que genera nuestro sistema inmunológico, como lo son los policarbonatos que se van a sintetizar. Para ser efectivos, estos deben tener una parte hidrófoba que sea capaz de interaccionar con los dominios lipídicos microbianos, y una parte catiónica que interaccione con los grupos fosfatos de la membrana microbiana provocando su ruptura, generando selectividad hacia estos ya que la membrana celular animal es neutra.<sup>15,23</sup>

El primer ejemplo de polímero biodegradable antibacteriano (Figura 1.7, a) fue desarrollado por Hedrick *et al.* en 2011.<sup>24</sup> Mediante la síntesis de nanopartículas por ROP a partir de carbonatos cíclicos con grupos amonio cuaternarios, lograron alterar las membranas microbianas de manera selectiva y eficiente, presentando buena actividad contra bacterias Gram +. Además, están probados *in vivo* y no muestran actividad hemolítica a altas concentraciones.

En 2018 se sintetizan policarbonatos con grupos guanidinio (Figura 1.7, b)<sup>23</sup> que poseen excelente actividad antimicrobiana, incluidas bacterias multirresistentes, además de gran selectividad sin presentar toxicidad importante en tratamientos *in vivo* y sin desarrollar resistencia tras sucesivas dosis. En este caso se estudian espaciadores aromáticos y alifáticos, donde la serie alifática, especialmente empleando etilo como espaciador, presenta mayor capacidad antimicrobiana.

En ese mismo año, se lleva a cabo otro estudio en el que se sintetizan policarbonatos introduciendo a través de química click la guanidina con el grupo azida (Figura 1.7, c),<sup>25</sup> consiguiendo actividad antibacteriana, demostrando así que los grupos guanidinio catiónicos muestran mayor actividad que los grupos amonio cuaternarios.

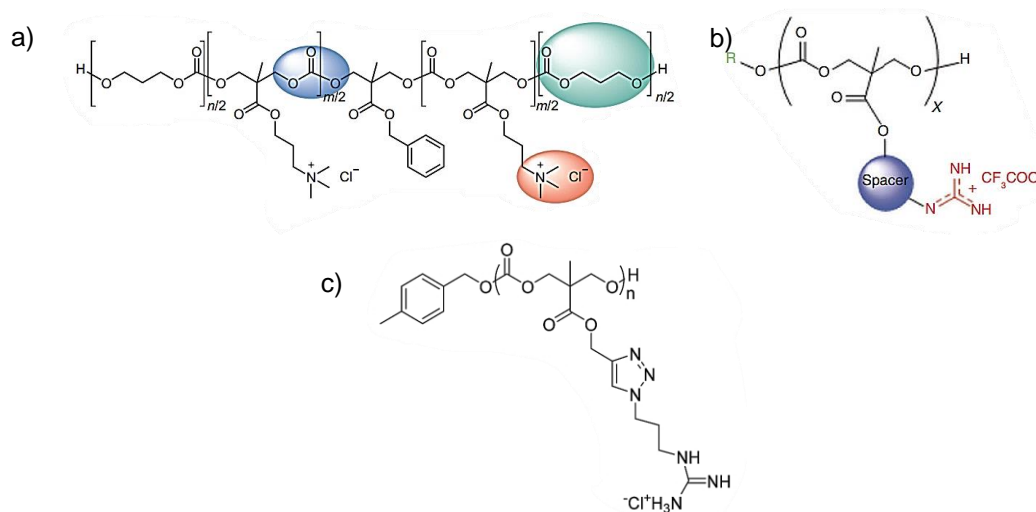
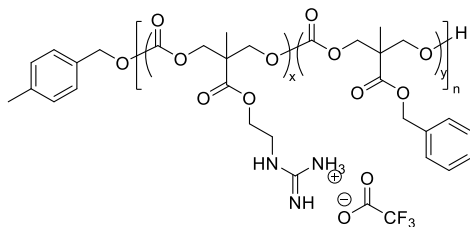


Figura 1.7 Ejemplos policarbonatos antimicrobianos

En 2021 se publica un estudio de copolímeros bloque con guanidinio, en el que se investiga el efecto que produce incorporar una cadena lateral hidrófoba sobre la actividad antimicrobiana y la selectividad (Figura 1.8). Se observa que cuanto más hidrófobos son los polímeros mayor capacidad antimicrobiana presentan, porque se produce una mayor interacción con la membrana, desestabilizándola. Sin embargo, si el carácter hidrófobo se aumenta demasiado, está reportado que se produce una pérdida de selectividad, lo que supone la muerte inespecífica de todas las células.<sup>26</sup>



*Figura 1.8: Copolímero aleatorio funcionalizado con guanidinio y unidades hidrófobas<sup>26</sup>*

Estos antecedentes directos al Trabajo de Fin de Grado establecen que el grupo guanidinio catiónico dota a los policarbonatos excelente actividad antimicrobiana. Esto motivó a realizar nuevos estudios en los que plataformas poliméricas con versatilidad en su funcionalización sirvan como base para conocer en mayor profundidad los derivados poliméricos de grupos guanidinio y su aplicación en el campo de la Salud.

## 2. OBJETIVOS Y PLANTEAMIENTO DEL TRABAJO

El objetivo general de este trabajo es la síntesis y caracterización de policarbonatos alifáticos que poseen cadenas laterales funcionalizables que permiten dotarlos con propiedades antimicrobianas. En este caso, se plantea la realización de homopolímeros derivados de bis-MPA a través de ROP organocatalizada, y posterior funcionalización mediante química click, en concreto la reacción tiol-ino, que permite introducir unidades guanidinio para dotarles de actividad antibacteriana.

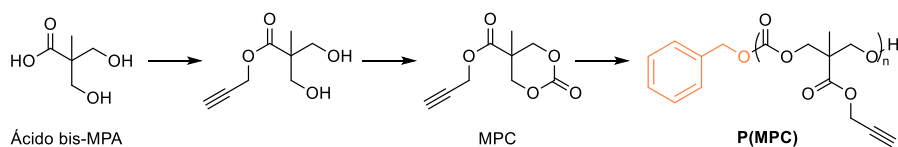
Tras la síntesis de un polímero base, se propone estudiar si dos grupos guanidinio por unidad repetitiva aumentan esta actividad respecto a uno, que es lo que está reportado en los artículos anteriormente mencionados.<sup>23-26</sup> Además se plantea la modificación no solo con unidades guanidinio, sino también con una combinación de unidades que aumenten la hidrofobicidad, con el objetivo de comprobar si la interacción con las membranas microbianas aumenta, ya que se ha descrito que esta variación afecta a la actividad antibacteriana.<sup>26</sup> Como los compuestos que se van a preparar poseen el esqueleto hidrófobo y cadenas laterales hidrófilas, se realizará además un estudio sobre el tamaño y morfología de los agregados en agua.

Para lograr los objetivos, se propone el plan de trabajo mostrado en la Figura 2.1, en el cual se abordan las siguientes tareas:

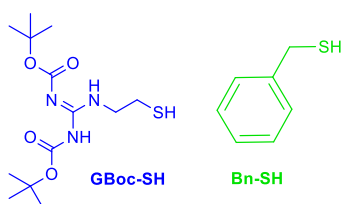
1. Síntesis del carbonato cíclico empleado como monómero (MPC) que contiene un grupo alquino lateral.
2. Síntesis del homopolímero (P(MPC)) mediante la polimerización por apertura de anillo del MPC, empleando TU/DBU como organocatalizadores y alcohol bencílico como iniciador.
3. Síntesis del derivado de guanidina dotado con un grupo tiol (GBoc-SH)

- Funcionalización del homopolímero mediante química click, a través de la reacción tiol-ino, variando la proporción de grupos entrantes, de forma que se aumente la hidrofobicidad al incorporar grupos bencilos:
  - Serie I.* 100% 2-mercaptoetilguanidina (GBoc-SH)
  - Serie II.* 75% GBoc-SH + 25% fenilmetanotiol (Bn-SH)
  - Serie III.* 50% GBoc-SH + 50% Bn-SH
- Desprotección con ácido trifluoroacético (TFA) del Boc contenido en los policarbonatos funcionalizados.
- Caracterización de los compuestos sintetizados mediante Resonancia Magnética Nuclear (RMN), espectroscopia infrarroja de transformada de Fourier (FTIR), análisis de masas (MS) y cromatografía por permeación de gel (GPC).
- Formación de agregados en agua y estudio de su tamaño y morfología mediante dispersión dinámica de luz (DLS) y microscopía electrónica de transmisión (TEM).

### 1 y 2. Síntesis del monómero (MPC) y polímero (P(MPC))



### 3. Tioles de partida



### 4. Funcionalización

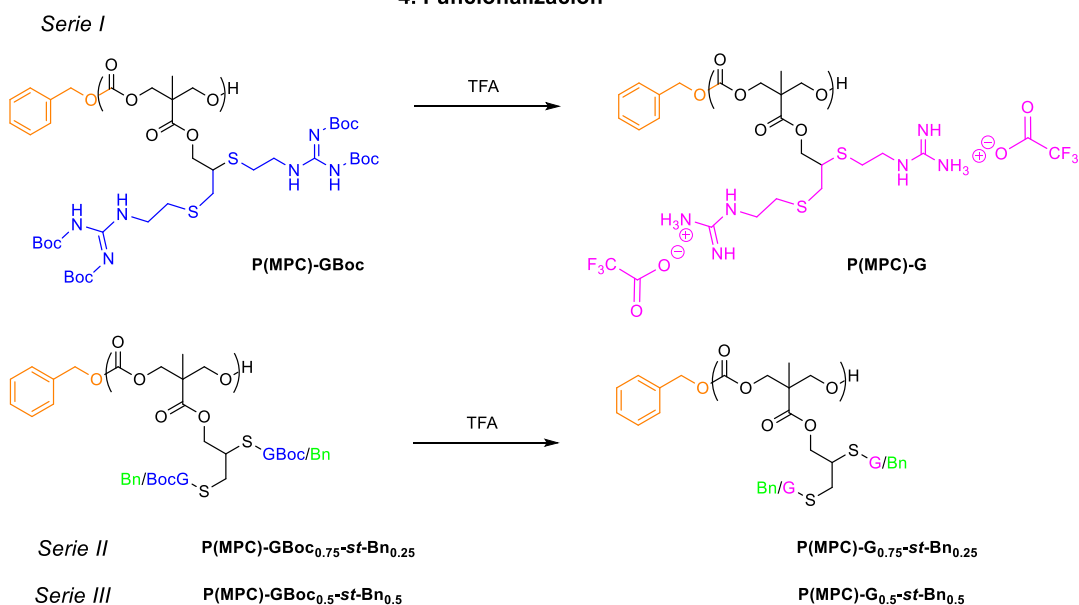


Figura 2.1 Ruta sintética seguida en este TFG

### 3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

#### 3.1. Síntesis del carbonato cíclico usado como monómero (MPC)

La preparación de carbonatos cíclicos a partir del ácido bis-MPA permite introducir grupos funcionales potencialmente modificables mediante química click. Existen diversos métodos de síntesis del monómero a partir del ácido bis-MPA,<sup>8,27</sup> en este trabajo se realiza en dos pasos consecutivos: la reacción de esterificación del ácido bis-MPA y la posterior ciclación del diol para obtener el carbonato (Figura 3.1)

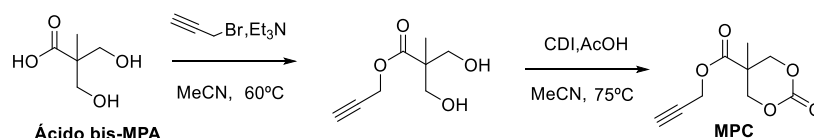


Figura 3.1: Síntesis de MPC

Para la reacción de esterificación del bis-MPA, se añade una base que forma el carboxilato correspondiente, lo que permite que, al añadir el bromuro de propargilo, se produzca una reacción  $S_N2$  dando lugar al éster precursor. La obtención del producto se confirma debido a que en el espectro de  $^1\text{H}$ -RMN (Anexo A, figura A1) se observa una única señal correspondiente al metileno unido al  $-\text{OOC}-$  a  $\delta=4.77$  ppm y una única señal a  $\delta=2.72$  ppm correspondiente al H del grupo hidroxilo. Además, en el espectro FTIR (Anexo A, figura A3) se detecta la banda  $\text{C}\equiv\text{C}$  a  $2130\text{ cm}^{-1}$  y a  $1727\text{ cm}^{-1}$  la señal del  $\text{C}=\text{O}$  éster que confirma su formación.

Posteriormente se lleva a cabo la preparación del carbonato cíclico utilizando 1,1-carbonildiimidazol (CDI) como fuente de carbonilo, tal y como se muestra en la bibliografía,<sup>27</sup> con un rendimiento del 68%. Se opta por usar el CDI frente a otras opciones debido a su facilidad de manejo, bajo coste y los subproductos de imidazol que genera se eliminan fácilmente mediante una extracción líquido-líquido. Tras llevar a cabo la reacción de ciclación, se observa la desaparición del protón correspondiente al grupo hidroxilo en el espectro de  $^1\text{H}$ -RMN (Anexo A, figura A4), lo que concuerda con la ausencia de banda  $-\text{O}-\text{H}$  en el espectro de FTIR (Anexo A, figura A6). Además, se observa que las señales de los  $\text{CH}_2$  diastereotópicos se desplazan respecto a las del éster precursor y se simplifica su multiplicidad apareciendo ahora como dobletes de dobletes (Anexo A, figura A4).

#### 3.2. Síntesis del policarbonato con grupos propargilo laterales (P(MPC))

La síntesis del policarbonato deseado se lleva a cabo a través de una reacción de polimerización por apertura de anillo (ROP) usando el alcohol bencílico como iniciador y DBU/TU como sistema organocatalítico (Figura 3.2). El uso de alcohol bencílico se debe a que facilita el estudio por RMN del grado de polimerización al poder detectar fácilmente las señales de esta unidad terminal en la cadena de polímero.<sup>17</sup>

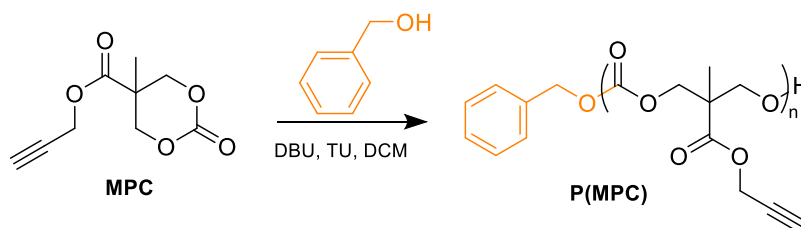


Figura 3.2: Síntesis de P(MPC)

Debido a que en las polimerizaciones controladas, como es la ROP, se considera una formación inicial rápida de todas las cadenas que se propagan, el grado de polimerización promedio teórico ( $DP_t$ ) se puede calcular a través de la ecuación 1, donde la concentración inicial de monómero y de iniciador son  $[M]_0$  y  $[I]_0$ , respectivamente, y C es la conversión en un determinado tiempo (monómero que ha reaccionado respecto al inicial).

$$DP_t = \frac{[M]_0}{[I]_0} \times C \quad (Ec.1)$$

Así, con el objetivo de obtener un policarbonato de grado de polimerización teórico en torno a 20 y siguiendo la ecuación 1, se emplea una relación  $[MPC]_0:[BnOH]_0$  1:1/23. Se escoge este grado de polimerización debido a que estudios previos este DP es el que presenta mayor selectividad a membranas microbianas.<sup>23</sup> Además, de acuerdo con la experiencia previa en el grupo,<sup>28,29</sup> se emplea una relación  $[MPC]:[TU]:[DU]$  1:0.01:0.05 con  $[MPC]_0 = 0.5M$ . La polimerización se realiza en un Schlenk bajo atmósfera de Ar y previamente seco para así evitar que moléculas de agua, también nucleófilas, actúen como iniciador.<sup>30</sup>

El seguimiento de la reacción se hace mediante  $^1H$ -RMN, donde se pueden diferenciar las señales de MPC y P(MPC), permitiendo así obtener la conversión a partir de sus integrales (ecuación 2).

$$Conversión (\%) = \frac{I_{P(MPC)}}{I_{P(MPC)} + 2 \times I_{MPC}} \quad (Ec.2)$$

Donde  $I_{P(MPC)}$  es la integración de las señales características del polímero que se pueden diferenciar de las del monómero (señal c,  $\delta=4.31$  ppm) e  $I_{MPC}$  es la integración de la señal característica y diferenciable del monómero (señal k',  $\delta=4.22$  ppm), la cual es importante distinguir de su H diastereotópico (k) que se observaría a  $\delta \approx 4.7$  ppm, pero en este caso se superpone con otras señales del polímero, (Figura 3.3).  $I_{P(MPC)}$  está relacionado con el monómero que ha reaccionado y  $I_{P(MPC)} + I_{MPC}$  está relacionado con el monómero total.

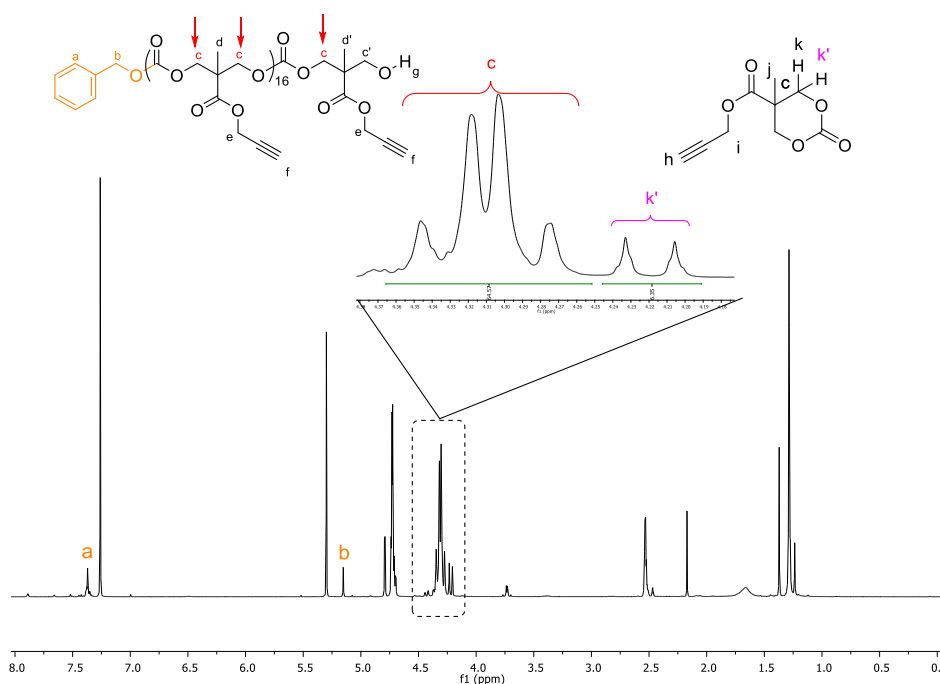


Figura 3.3: Espectro  $^1H$ -RMN (400 MHz,  $CDCl_3$ ) tras 1h del inicio de la polimerización

En primer lugar, se realiza una polimerización en la que se obtiene una conversión del 94%, pero al realizar un estudio por MALDI-TOF MS (figura 3.4, a) se observa la existencia de una segunda distribución además de la principal. Esto puede ser debido a que en el tiempo de reacción empleado (70 min) para llegar a conversiones tan altas, se ha producido crecimiento de cadena por un proceso diferente al esperado, como puede ser un desarrollo análogo a una transesterificación que produce que la cadena crezca de manera no controlada. Consecuentemente, se lleva a cabo una segunda polimerización en las mismas condiciones, disminuyendo el tiempo de reacción (60 min), para obtener un polímero con una conversión del 84%, en el que se aprecia claramente una única distribución en el espectro MALDI-TOF MS (Figura 3.4, b), por lo que será este el que se empleará para el resto de las síntesis planteadas. Como se observa en la Figura 3.4b, la distancia entre los picos es 198 m/z, coincidiendo con la masa esperada de la unidad repetitiva.

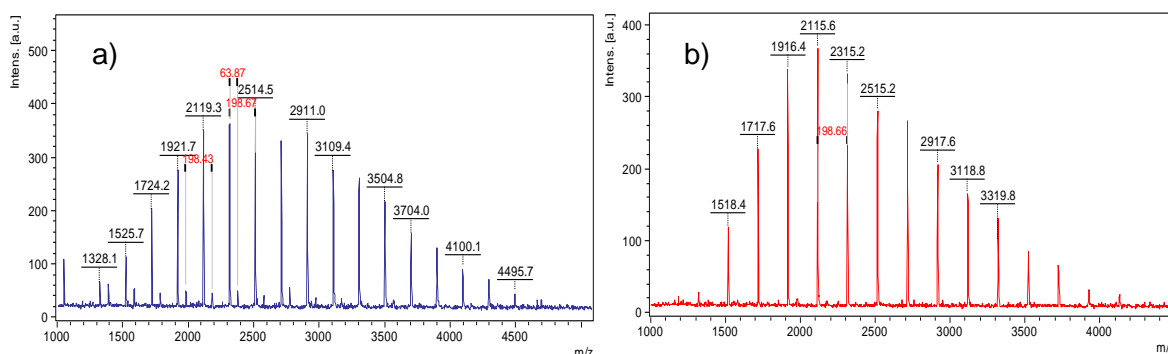


Figura 3.4: Espectro Masas MALDI-ToF (Microflex, matriz DCTB) de P(MPC): a) tras 70 min, b) 60 min de reacción

Una vez terminada la reacción y aislado el polímero, la determinación del grado de polimerización (DP) se obtiene del espectro  $^1\text{H}$ -RMN. La posibilidad de este cálculo es debido a que tanto las señales aromáticas ( $\text{H}_a$ ) como la del  $\text{CH}_2$  ( $\text{H}_b$ ) del iniciador son fácilmente identificables y permiten referenciar el resto (Figura 3.3). A partir de las señales de los distintos protones pertenecientes a la unidad repetitiva de P(MPC) en el  $^1\text{H}$ -RMN se puede calcular el DP, por ejemplo, a partir del valor de la integración del  $\text{H}_c$ , conociendo que hay 4 protones de ese tipo por unidad repetitiva, obteniendo así un DP=19 en el primer polímero y DP=17 para el siguiente. A partir de ahora este último polímero va a ser el denominado P(MPC), usado en el resto de las reacciones.

Además, en los datos obtenidos por cromatografía de permeación en gel (GPC) se observa que al repetir la polimerización también se mejora la dispersidad (de  $\text{Đ}=1.28$  a  $\text{Đ}=1.14$ ) obteniendo un pico definido (Figura 3.5). Por lo tanto, se concluye que a mayor conversión se tiene un mayor grado de polimerización, pero también mayor dispersidad, como se muestra en la tabla 3.1, y un peor control estructural, de acuerdo con el análisis de masas.

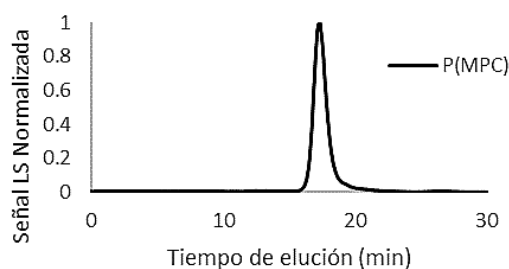


Figura 3.5: Análisis de P(MPC) por GPC

A partir del DP calculado por  $^1\text{H-RMN}$  ( $\text{DP}^{\text{RMN}}$ ), se puede obtener la masa molecular en número ( $M_n^{\text{RMN}}$ ) del polímero obtenido usando la ecuación 3, donde  $M_{\text{in}}$  es la masa molecular del iniciador (alcohol bencílico 108.14 g/mol) y  $M_{\text{MPC}}$  es la de la unidad repetitiva (198,18 g/mol) coincidente con el monómero.

$$M_n^{\text{RMN}} = M_{\text{in}} + \text{DP}^{\text{RMN}} \times M_{\text{MPC}} \quad (\text{Ec. 3})$$

Polímero	C % (Ec.2)	$\text{DP}_t$ (Ec.1)	$\text{DP}^{\text{RMN}}$	$M_n^t$	$M_n^{\text{RMN}}$	$M_n^{\text{GPC}}$	$\text{Đ}^{\text{GPC}}$
PMPC <sub>19</sub>	94	23	19	4666	3874	4228	1.28
PMPC <sub>17</sub>	82	23	17	4666	3477	4463	1.14

Tabla 3.1: Resumen polímeros obtenidos por polimerización con el sistema DBU/TU

La diferencia percibida entre las masas moleculares en número ( $M_n^{\text{GPC}}$ ) determinadas por GPC y las calculadas a partir de la ecuación 3 ( $M_n^{\text{RMN}}$ ) se debe a que las masas moleculares obtenidas por GPC son masas relativas y dependen de los patrones utilizados, en este caso de poli(metacrilato de metilo).

### 3.3. Síntesis del derivado de guanidina con grupo tiol (GBoc-SH)

El objetivo de este trabajo es la funcionalización, mediante reacción tiol-ino, con derivados de guanidinio análogos a los que se han descrito con capacidad de interaccionar con la membrana microbiana.<sup>24</sup> Para ello, se lleva a cabo la síntesis de derivados de guanidina con grupo tiol (GBoc-SH) tal y como muestra la Figura 3.6.

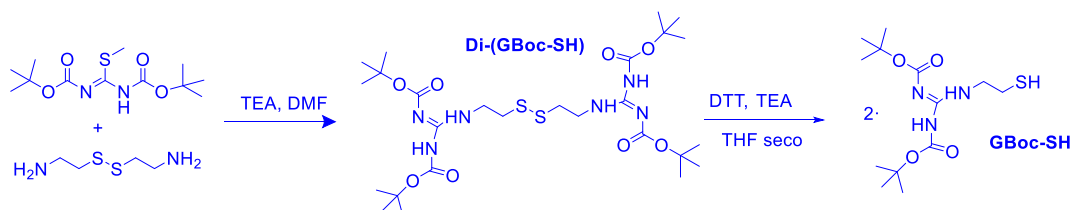


Figura 3.6 Síntesis de derivado de guanidina con grupo tiol (GBoc-SH)

La ruta sintética consta de una primera reacción de sustitución, donde se produce el ataque nucleofílico de la amina sobre el carbono electrofílico ( $-\text{N}=\text{C}-\text{S}-$ ), con salida de  $\text{SHCH}_3$  dando lugar al derivado de guanidina dímero Di-(GBoc-SH).<sup>31</sup> Mediante una segunda reacción de reducción del disulfuro se obtiene el tiol (GBoc-SH) que posteriormente se usará para la funcionalización de P(MPC).

En un primer lugar para la obtención del dímero de guanidina Di-(GBoc-SH) se emplea  $N,N$ -diisopropiletilamina (DIPEA) como base y DCM seco como disolvente, de acuerdo con condiciones análogas descritas en la bibliografía.<sup>23</sup> Sin embargo, dado que la mezcla de la reacción resulta no ser soluble, se proponen nuevas condiciones de reacción, obtenidas de otra referencia.<sup>32</sup> Se usa trietilamina (TEA) como base, y se cambia también el disolvente a DMF, de modo que la reacción progresa dando el producto deseado con un rendimiento del 43%.

Debido al bajo rendimiento obtenido y a que se observa la aparición de varios subproductos tanto en el  $^1\text{H-RMN}$  como en la TLC del crudo de la reacción, se realiza un estudio del MS, donde se observan picos que podrían coincidir con diversos productos como se muestra en la figura 3.7. El pico A podría corresponderse con la especie reducida (GBoc-SH), la masa de B coincide con la del producto de la

oxidación de A que ha reaccionado con el SH-CH<sub>3</sub> que se libera durante la reacción, C podría coincidir con el dímero en el que ha tenido lugar la desprotección de un grupo terc-butiloxicarbonilo (Boc), D puede ser el producto de la reacción del ataque del N de la guanidina al enlace S-S del dímero, y E es el producto deseado (Di-(GBoc-SH)).

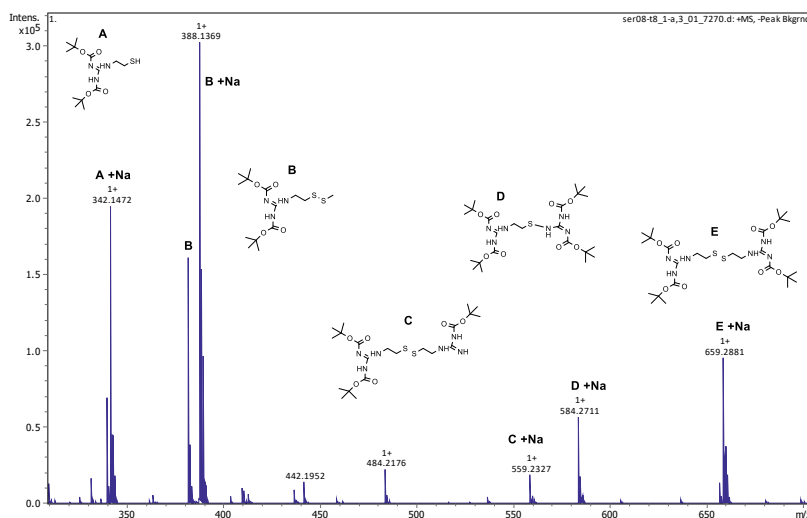


Figura 3.7 Espectro ESI MS Di-(GBoc-SH)

Tras esto, el producto de la reacción (Di-(GBoc-SH)) se purifica mediante cromatografía en columna y se identifica por RMN (Anexo A, Figuras A9 y A10).

Una vez purificado el dímero Di-(GBoc-SH), se lleva a cabo la reducción del disulfuro con ditioneitol (DTT), en la cual hay que añadir TEA gota a gota hasta pH=9 para que comience la reacción. La necesidad de aumentar el pH es debido a que a pH=7 o similar el DTT es un agente reductor lento porque la mayoría de los grupos tiol que posee están protonados.<sup>32,33</sup> Se comprueba que no queda reactivo inicial a partir de una cromatografía en capa fina. Además, se confirma con las diferencias presentes en los espectros <sup>1</sup>H-RMN y <sup>13</sup>C-RMN. En el espectro <sup>1</sup>H-RMN del dímero se observa un triplete a  $\delta=2.88$  ppm correspondiente a las señales del CH<sub>2</sub>-S (Anexo A, Figura A9), mientras que en tiol final esta señal desaparece y, en su lugar, aparece un doblete de triplete a  $\delta=2.73$  ppm (Anexo A, Figura A12). También se observan estos cambios en el espectro <sup>13</sup>C-RMN ya que en el dímero la señal correspondiente al CH<sub>2</sub>-S aparece a  $\delta=39.32$  ppm (Anexo A, Figura A10), y en el tiol se desplaza a  $\delta=24.32$  ppm (Anexo A, Figura A13).

### 3.4. Funcionalización de P(MPC)

Una vez obtenido el polímero P(MPC), a través de la reacción tiol-ino de adición de radicales tiolo al alquino, es posible su funcionalización. Conociendo esto, se propone, en primer lugar, la funcionalización con dos grupos guanidinio por unidad repetitiva para comprobar cuál es su actividad antimicrobiana respecto a lo descrito en la bibliografía.<sup>23-26</sup> Además, teniendo en cuenta que los grupos guanidinio presentan un carácter hidrófilo, se varía la proporción hidrófilo/hidrófobo mediante la incorporación fenilmetanotiol (hidrófobo), con el objetivo de comprobar si aumentando la parte hidrófoba mejora la interacción con la membrana bacteriana y por lo tanto su actividad.<sup>26</sup>

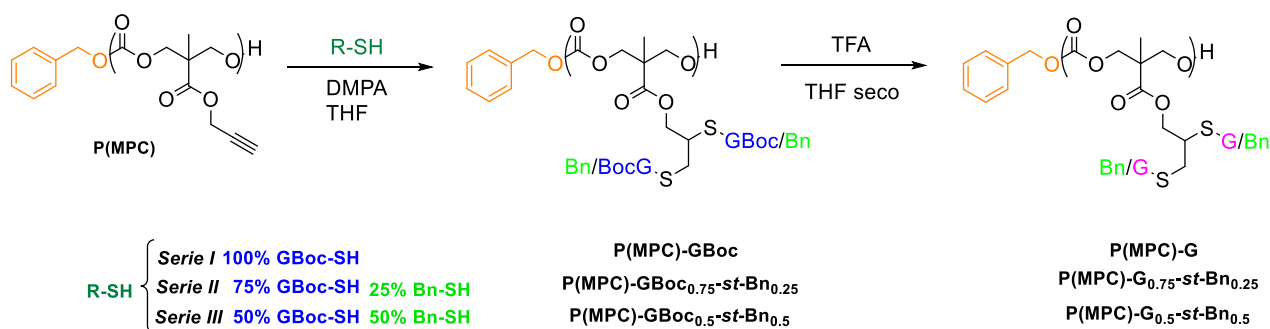


Figura 3.8: Ruta sintética para la obtención de los polímeros funcionalizados.

En la figura 3.8 puede verse la ruta sintética general de reacción seguida para la obtención de los diferentes polímeros, en el que primero tiene lugar la funcionalización a través de una tiol-ino empleando DMPA como fotoiniciador UV y una lámpara UV con máximo de irradiación a 365 nm.<sup>20</sup> En esta reacción la relación [Alquino]:[R-SH]:[DMPA] es 1:10:0.05, con un gran exceso de tiol para así asegurar una completa funcionalización. Su seguimiento se lleva a cabo realizando espectros <sup>1</sup>H-RMN al crudo, hasta que desaparece por completo la señal a  $\delta \approx 4.75$  ppm correspondiente al  $-CH_2-C\equiv$ . Una vez finalizada la reacción, se lleva a cabo la desprotección de los grupos protectores (Boc) con ácido trifluoroacético (TFA) en THF, realizando la purificación por precipitación en éter frío y liofilizando, tal y como se indica en la bibliografía,<sup>26</sup> dando lugar a los polímeros finales.

La diferencia entre los tres polímeros finales se encuentra en la proporción utilizada de los dos tioles (GBoc-SH/Bn-SH) que reaccionan con los grupos propargilo. En la serie I, se lleva a cabo una funcionalización tan solo con grupos guanidinio (GBoc-SH). En las series II y III, se aumenta la proporción hidrófoba mediante la adición de tiol bencílico (Bn-SH) en diferentes proporciones.

➤ Serie I: Funcionalización de P(MPC) con un 100% de unidades guanidina (GBoc-SH)

Para la reacción solamente con unidades guanidina, empleando el tiol GBoc-SH, se controla la funcionalización por <sup>1</sup>H-RMN, comprobándose que a las 3h se había completado obteniendo P(MPC)-GBoc. Se observa en el espectro <sup>1</sup>H-RMN (Anexo A, Figura A15), que la señal correspondiente al  $-CH_2-C\equiv$  de PMPC<sub>17</sub> a  $\delta = 4.72$  ppm ha desaparecido, además en FTIR no aparece  $C\equiv C$  (Anexo A, Figura A16). Al estudiar el espectro de FTIR se observa un pico a  $2340\text{ cm}^{-1}$  (-SH, Figura 3.9, a) que corresponde al tiol residual. Sin embargo, una vez que se realiza la desprotección del grupo Boc para obtener el polímero objetivo P(MPC)-G, en el espectro de FTIR se aprecia su desaparición, confirmando así la purificación y eliminación del tiol residual. El contraíón de los grupos guanidinio es el trifluoroacetato. La eliminación total del ácido trifluoroacético usado en la desprotección, se verifica con la aparición de una única señal en el espectro <sup>19</sup>F-RMN correspondiente al  $CO_2CF_3^-$  a  $\delta = -74$  ppm (Anexo A, Figura A18), y no la del TFA a  $\delta = -77$  ppm.

El polímero P(MPC)-G se obtiene como un sólido blanco que se disuelve en agua. La desprotección ha sido completa debido a que en el espectro <sup>1</sup>H-RMN las señales a  $\delta = 1.48$  ppm (Figura 3.9, b) pertenecientes al Boc desaparecen.

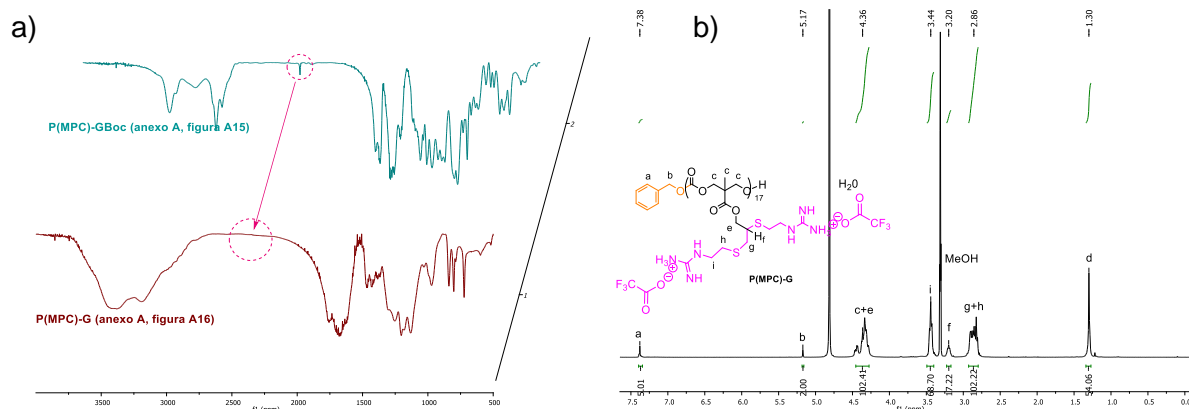


Figura 3.9: Espectros a) FTIR (KBr)  $\nu$ :  $\text{cm}^{-1}$  de P(MPC)-GBoc y P(MPC)-G b)  $^1\text{H}$ -RMN (400 MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ ) P(MPC)-G

➤ Serie II: Funcionalización de P(MPC) con un 75% de GBoc-SH y un 25 % de Bn-SH

Para aumentar la hidrofobicidad, se funcionaliza el polímero P(MPC) con un 75% de GBoc-SH y 25% de Bn-SH. En este caso la reacción también da lugar a la funcionalización completa de los grupos alquino del policarbonato. Esto se corrobora, de nuevo, con el espectro  $^1\text{H}$ -RMN (Anexo A, Figura A20) en el que no aparece señal a  $\delta=4.72\text{ppm}$  del  $-\text{CH}_2-\text{C}\equiv$  de P(MPC) y con el espectro FTIR (Anexo A, Figura A21) donde no se detecta señal del  $-\text{C}\equiv\text{C}-$ . Sin embargo, para completar la funcionalización del polímero, en este caso se tuvo que añadir más iniciador y dejar reaccionar durante 3.5h adicionales debido a que a las 5h todavía no había tenido lugar la funcionalización total.

Por otra parte, aunque la mezcla de tioles se añade a la reacción con una composición de 75% de GBoc-SH y un 25% de Bn-SH, tras el estudio del espectro  $^1\text{H}$ -RMN del polímero obtenido se observa que la composición en el polímero final es de 59% de GBoc-SH y 41% de Bn-SH.

La relación GBoc-SH/Bn-SH se obtiene a partir de la relación de señales características de cada grupo en el espectro  $^1\text{H}$ -RMN (Figura 3.10) y utilizando los protones de la señal b, correspondientes al  $\text{CH}_2$  del iniciador, como referencia para el cálculo de las integrales. La proporción de grupos GBoc-SH que han reaccionado se puede obtener a partir de las señales k y j, correspondientes a los protones N-H a  $\delta=11.64\text{ ppm}$  y a  $\delta=8.53\text{ppm}$ , y los grupos Bn corresponden a la señal a+n, correspondientes a los protones aromáticos a  $\delta=7.6-7.0\text{ ppm}$ , restándole a su integración los  $\text{H}_\text{a}$ .

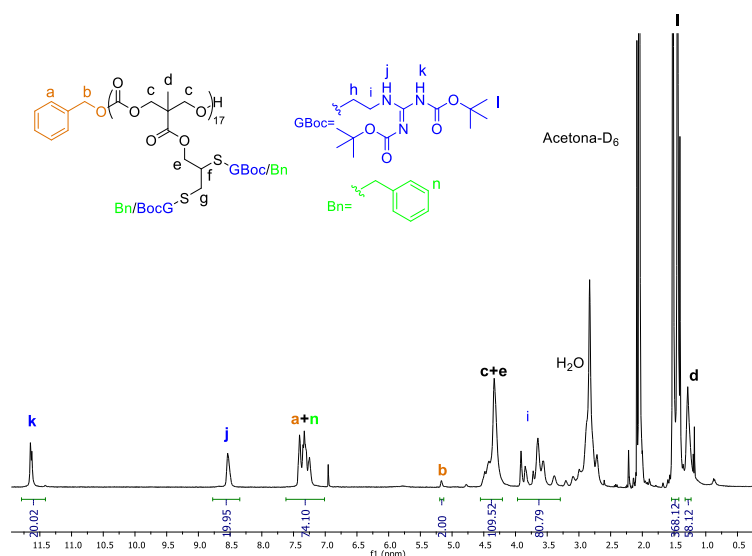


Figura 3.10: Espectro  $^1\text{H}$ -RMN (400 MHz,  $\text{CD}_3\text{COCD}_3$ )  $\delta$  (ppm) de P(MPC)-GBoc<sub>0.75</sub>-St-Bn<sub>0.25</sub>

Tras la desprotección del Boc y purificación se obtiene  $P(MPC)-G_{0.75}-st-Bn_{0.25}$  como un sólido blanco soluble en agua. En cuanto al  $^1H$ -RMN, no se pueden cuantificar perfectamente las señales porque son complejas y anchas, pudiendo ser fruto de la agregación del polímero en el disolvente deuterado. Prueba de ello es la clara diferencia entre la señal del  $CH_2$  del iniciador que siempre aparece como un pico definido y al introducir el derivado bencílico se observa una señal ancha mostrada en la figura 3.11.

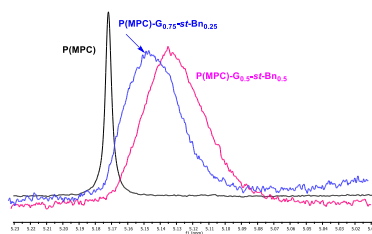


Figura 3.11: Señales  $^1H$ -RMN del  $-CH_2-$  del iniciador

➤ Serie III: Funcionalización de  $P(MPC)$  con un 50% de GBoc-SH y un 50% de Bn-SH

Para aumentar más la hidrofobicidad, se funcionaliza usando un 50 % de cada tiol. En este caso a las 3h la funcionalización no resulta completa, por lo que se vuelve a encender la lámpara UV y se deja reaccionando 2h más. Tras esto, como la reacción no avanza se añade de nuevo un 5% de DMPA. Tras pasar 3h y media se decide parar la reacción debido a que, desde las 3 primeras horas, aun aumentando el tiempo de reacción y la cantidad de catalizador, la conversión por  $^1H$ -RMN no varía.

Por tanto, no se consigue la completa funcionalización como se observa en la Figura 3.12, en la que la señal a  $\delta=4.76$  ppm (ñ) corresponde al  $-CH_2\equiv C$  del  $P(MPC)$  no funcionalizado, y en el espectro FTIR (Anexo A, Figura A25) a  $2129\text{ cm}^{-1}$  se sigue observando la señal de  $-C\equiv C-$ . A partir del espectro de  $^1H$ -RMN se cuantifica la cantidad de GBoc-SH y Bn-SH que han reaccionado y se han incorporado al propargilo, de manera análoga con las mismas señales usadas en la serie anterior, además se puede calcular el porcentaje de grupos propargilo que han sido funcionalizados (71%).

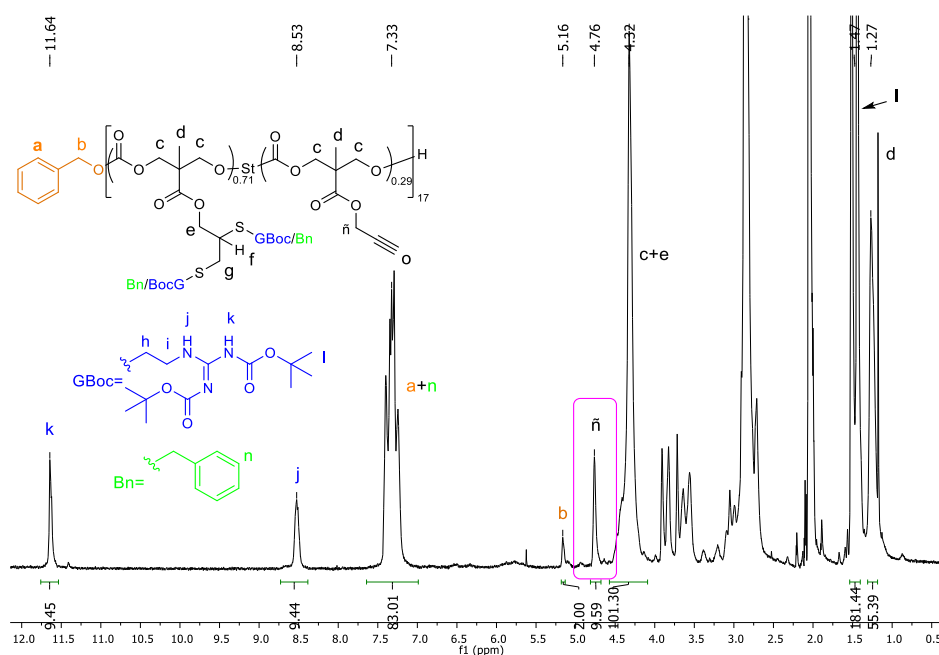


Figura 3.12: Espectro  $^1H$ -RMN de  $P(MPC)-GBoc_{0.5}-st-Bn_{0.5}$

Tras la desprotección del Boc, y purificación se obtiene el polímero final como un sólido blanco, el cual no se disuelve en agua. En cuanto al  $^1\text{H}$ -RMN, no se pueden cuantificar perfectamente las señales por el mismo motivo que en el caso anterior (Figura 3.11).

Para asegurar que en la obtención de  $\text{P(MPC)-G}_{0.75}\text{-st-Bn}_{0.25}$  y  $\text{P(MPC)-G}_{0.5}\text{-st-Bn}_{0.5}$  (series II y III) se ha logrado eliminar el exceso de trifluoroacético, se realiza un espectro  $^{19}\text{F}$ -RMN y se observa que aparece una única señal, lo que podría indicar que el único resto fluorado es el correspondiente al anión trifluoroacetato. Sin embargo, dado que aparece a un desplazamiento distinto al caso de  $\text{P(MPC)-GBoc}$ , se realiza un  $^{19}\text{F}$ -RMN de TFA puro en MeOD, con el objetivo de comparar sus desplazamientos. Dado que estos difieren, se puede confirmar la ausencia de TFA en los polímeros finales (Figura 3.13).

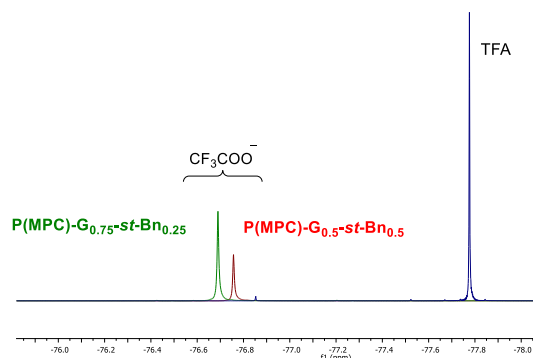


Figura 3.13: Espectro  $^{19}\text{F}$ -RMN de  $\text{P(MPC)-G}_{0.75}\text{-st-Bn}_{0.25}$ ,  $\text{P(MPC)-G}_{0.5}\text{-st-Bn}_{0.5}$  y TFA puro

Tanto en la serie II como en la III se aprecia que la proporción en la que han entrado los grupos funcionales es distinta a la de la alimentación (Tabla 3.2).

RELACIÓN	GBoc-SH/Bn-SH teórica	GBoc-SH/Bn-SH experimental
Serie II	75/25	59/41
Serie III	50/50	37/63

Tabla 3.2: Relación entre grupos entrantes teórica y experimental

Tras los resultados obtenidos en ambos casos, se puede afirmar que el grupo Bn-SH entra en mayor proporción a la esperada. Además, se corrobora debido a que en la serie III no es posible la funcionalización completa ni aumentando el tiempo de reacción ni añadiendo un exceso del iniciador.

A partir de los datos obtenidos por GPC se confirma la eficacia del proceso de funcionalización, ya que los polímeros funcionalizados protegidos  $\text{P(MPC)-GBoc}$ ,  $\text{P(MPC)-GBoc}_{0.75}\text{-st-Bn}_{0.25}$  y  $\text{P(MPC)-GBoc}_{0.5}\text{-st-Bn}_{0.5}$  (Anexo B, Figura B5) muestran un pico de distribución desplazado a un tiempo de retención inferior que  $\text{PMPC}_{17}$  debido al aumento de la masa. Se observa que las curvas obtenidas por GPC tras la funcionalización son anchas y muestran varios picos, pudiendo ser fruto de una interacción entre los N de los derivados de guanidina y la superficie de la columna.<sup>34</sup> Debido a esto, la dispersidad y la masa molecular proporcionada por el equipo no son representativas.

Es importante comentar, que tanto  $\text{P(MPC)-G}$  obtenido en la serie I, como  $\text{P(MPC)-G}_{0.75}\text{-st-Bn}_{0.25}$  en la II, son solubles en agua formando agregados que van a ser estudiados por DLS y TEM, mientras que  $\text{P(MPC)-G}_{0.5}\text{-st-Bn}_{0.5}$  obtenido en la serie III no lo es.

### 3.5. Formación de agregados en agua y estudio de su tamaño y morfología

Para la formación de agregados en agua, las muestras se preparan disolviendo directamente el producto a estudiar en agua y sonicando en baño de ultrasonidos durante 10 min, preparando disoluciones de 0.1 mg/mL de P(MPC)-G y P(MPC)-G<sub>0.75</sub>-St-Bn<sub>0.25</sub>. El tamaño de los agregados se puede determinar por dispersión dinámica de la luz (DLS), la cual cuantifica el diámetro hidrodinámico en función de cómo los agregados en agua dispersan la luz.

Se realizan tres repeticiones para asegurar que las medidas son reproducibles. En ambos casos (Figura 3.14 y 3.15) se representa una media de las repeticiones tanto en la distribución número como en intensidad.

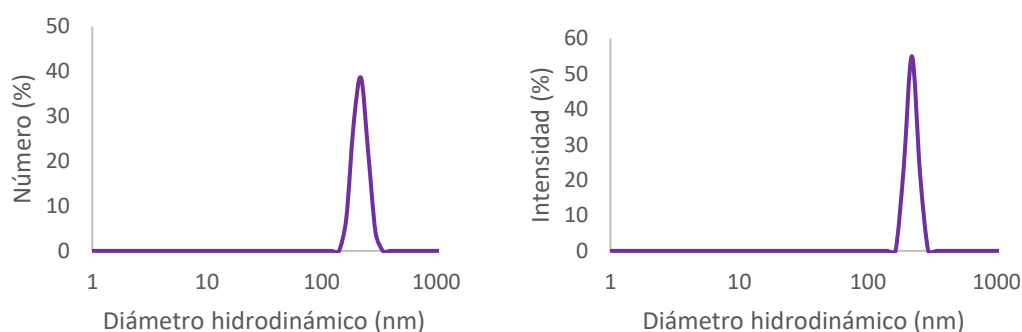


Figura 3.14: Distribución número e intensidad medido por DLS (escala logarítmica) de P(MPC)-G

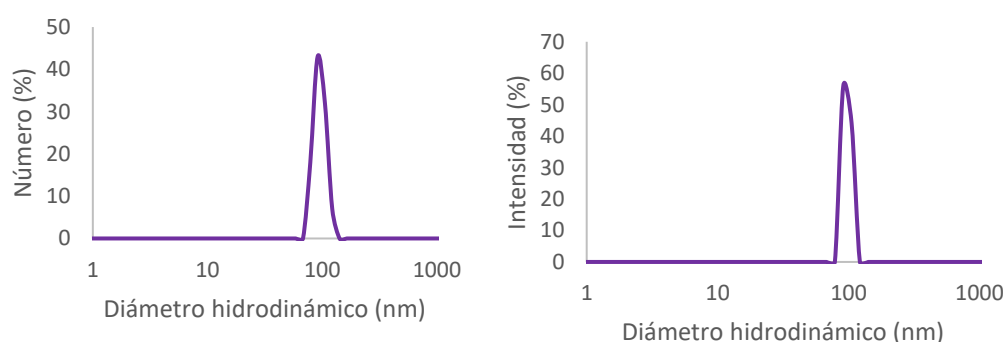


Figura 3.15: Distribución número e intensidad medido por DLS (escala logarítmica) de P(MPC)-G<sub>0.75</sub>-St-Bn<sub>0.25</sub>

A partir los datos obtenidos del DLS (Tabla 3.3), se puede confirmar que efectivamente ambos compuestos forman agregados en agua observándose una única distribución de tamaños, pero con elevado índice de polidispersidad (PDI), pudiéndose deber a la formación de agregados más grandes como se aprecia en las imágenes tomadas por microscopía electrónica de transmisión (TEM) expuestas en el Anexo C, Figuras C1 y C2.

	Media número (nm)	Media intensidad(nm)
P(MPC-(G) <sub>2</sub> ) <sub>17</sub>	218.3	220.7
P[(G) <sub>0.59</sub> -St-(Bn) <sub>0.41</sub> ]	95.8	97.7

Tabla 3.3: Datos obtenidos por DLS

Para el estudio del tamaño y morfología de los agregados por TEM, se preparan disoluciones de 1 mg/mL de ambos compuestos, llevando a cabo la elaboración de las celdillas como se muestra en el Anexo D.

La figura 3.16 muestra algunas fotografías representativas:

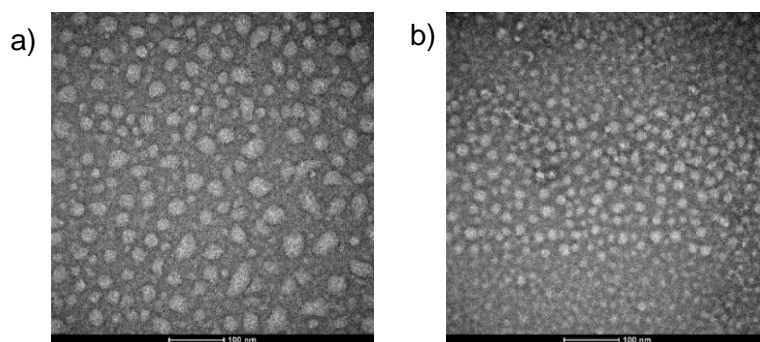


Figura 3.16: Imágenes TEM de a)  $P(\text{MPC})\text{-G}$ , b)  $P(\text{MPC})\text{-G}_{0.75}\text{-st-Bn}_{0.25}$

En ambos casos, a partir de la Figura 3.16 se comprueba que los agregados se corresponden con micelas esféricas. Sin embargo, hay diferencias entre ambos, principalmente en el tamaño. Los agregados que se observan para  $P(\text{MPC})\text{-G}$  poseen un diámetro de aproximadamente 27 nm, mientras que los que forma  $P(\text{MPC})\text{-G}_{0.75}\text{-st-Bn}_{0.25}$  tienen un diámetro en torno a 17 nm. Respecto a lo obtenido, se confirma que en el primer caso (a) las micelas son de tamaño mayor que en el segundo caso (b) donde se ve una distribución de micelas más redondas y más uniforme, que puede ser porque ha aumentado el contenido en parte hidrófoba, lo que concuerda con la bibliografía.<sup>35</sup>

Esta diferencia de tamaños concuerda con la obtenida por DLS, aunque en DLS salen valores notablemente mayores que puede ser debido a la medición directa del diámetro hidrodinámico en agua para una muestra iónica. En compuestos análogos se han observado diferencias entre ambos tipos de medidas,<sup>35</sup> sin embargo es preciso llevar a cabo más estudios para corroborar estos resultados aparentemente tan divergentes, si bien confirman en ambos casos la tendencia a la agregación micelar.

Por último, resaltar que la actividad bactericida del polímero  $P(\text{MPC})\text{-G}$  está siendo estudiada por el grupo del Prof. M.Arruebo en las instalaciones que dispone en el CIBA (Centro de Investigación Biomédica de Aragón) y los primeros resultados han confirmado dicha actividad tanto para bacterias Gram+ como Gram-, si bien son necesarios estudios complementarios de selectividad y comparación con otros agentes antibacterianos.

## 4. PARTE EXPERIMENTAL

### 4.1. Síntesis y caracterización del éster precursor: 2,2-bis(hidroximetil)propionato de propargilo

En un matraz de fondo redondo se añade ácido bis-MPA (25 g, 186.56 mmol) y MeCN (100mL) como disolvente. Se agita a RT y se añade TEA (26.3 mL, 186.56 mmol) hasta conseguir una mezcla homogénea. A continuación, se añade bromuro de propargilo (27.74 g, 186.56 mmol) gota a gota. Se prepara el sistema de reflujo a 60°C y se deja reaccionar durante 21h. Se comprueba que la reacción ha transcurrido por cromatografía de capa fina del crudo (DCM:MeOH 95:5). Una vez terminada, se deja enfriar a RT y se evapora el disolvente con ayuda del rotavapor. El residuo crudo se disuelve en acetato de etilo (70 mL) y se vierte en HCl 1M (120 mL). Las dos fases se separan y se realiza una extracción líquido-líquido con AcOEt (3x150 mL). La fase orgánica se seca con  $\text{MgSO}_4$  anhidro, se filtra y se concentra con el rotavapor. Posteriormente se realiza una cromatografía en columna usando como eluyente DCM: AcOEt 8:2 aumentando la polaridad hasta DCM:AcOEt 1:1. Se evapora a sequedad y se obtiene un sólido blanco como producto.

Rendimiento: 22%

**<sup>1</sup>H RMN** (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ (ppm): 4.77 (d, 2H, J=2.3 Hz), 3.94 (dd, 2H, J=11.4 Hz, J=6.1 Hz), 3.75 (dd, 2H, J=11.4 Hz, J=5.9 Hz), 2.72 (t, 2H, J=6.3 Hz), 2.50 (t, 1H, J=2.3 Hz), 1.1 (s, 3H)

**<sup>13</sup>C-RMN** (100 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ (ppm): 175.04, 77.28, 75.22, 67.89, 52.49, 49.31, 16.96

**FTIR** (KBr, ν: cm<sup>-1</sup>): 3416 banda ancha (OH), 3293 (Csp-H), < 3000 (Csp<sup>3</sup>-H), 2130 (C≡C), 1727 (C=O), 1037 (C-O)

#### 4.2. Síntesis y caracterización de 5-metil-5-propargiloxycarbonil-1,3-dioxano-2-ona (MPC).

En un matraz de fondo redondo se añade el 2,2-bis(hidroximetil)propionato de propargilo (6.5 g, 37.79 mmol) y MeCN (75 mL) como disolvente. Esta suspensión se agita a RT hasta que se disuelve. Se añade CDI (9.20 g, 56.73 mmol) y se sigue agitando la disolución 5 min más. Tras esto se añade ácido acético (35 mL, 604.64 mmol) y se deja agitando a 75°C durante 3 h. Se comprueba que la reacción ha terminado por cromatografía de capa fina del crudo (DCM:AcOEt 9:1). Una vez completa se enfría hasta RT y se concentra con ayuda del rotavapor. El residuo crudo se disuelve en DCM (100 mL) y se vierte en HCl 2M (100 mL). Las dos fases se separan y se realiza una extracción líquido-líquido con DCM (2x100 mL). La fase orgánica se seca con MgSO<sub>4</sub> anhidro, se filtra y se concentra con el rotavapor. Tras esto, se disuelve en 25 mL de AcOEt y se realiza una recristalización/precipitación con 75 mL hexano, en la que los cristales se recogen por filtración a vacío y se lavan con hexano a RT. Por último, se realiza una cromatografía en columna usando como eluyente DCM: AcOEt 9:1 y se evapora hasta sequedad con ayuda del rotavapor.

Rendimiento: 68%

**<sup>1</sup>H RMN** (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ (ppm): 4.79 (d, 2H, J=2.5 Hz), 4.72 (d, 2H, J=11 Hz), 4.22 (d, 2H, J=11 Hz), 2.53 (t, 1H, J=2.5 Hz), 1.37 (s, 3H)

**<sup>13</sup>C-RMN** (100 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ (ppm): 170.34, 147.22, 76.37, 75.96, 72.72, 53.49, 40.21, 17.43

**FTIR** (KBr, ν: cm<sup>-1</sup>): 3300 (Csp-H), <3000 (Csp<sup>3</sup>-H), 2135 (C≡C), 1742(C=O)

#### 4.3. Síntesis y caracterización de P(MPC)

En un matraz Schlenk se añade la TU (140 mg, 0.378 mmol) bajo Ar y se deja secando a vacío durante 2h. Transcurrido este tiempo, se añade el alcohol bencílico (35,58 mg, 0.329 mmol), DBU (11.57 mg, 0.076 mmol), DCM seco (15 mL) y MPC (1.5 g, 7.569 mmol) bajo atmósfera de Ar. El crudo de reacción se precipita en hexano frío y se purifica mediante cromatografía en columna de sílica gel usando como eluyente Hex: AcOEt 7:3 hasta Hex: AcOEt 3:7, y se evapora a sequedad.

Rendimiento: 88%

**<sup>1</sup>H RMN** (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ (ppm): 7.40-7.33 (m, 5H), 5.15 (s, 2H), 4.72 (d, 34H, J=2.8 Hz), 4.31 (m, 68H, J=10.4 Hz), 3.73 (m, 2H), 2.55-2.50 (m, 17H), 2.47 (t, 1H, J=2.4 Hz), 1.29 (s, 48H), 1.24 (s, 3H)

**FTIR** (KBr, ν: cm<sup>-1</sup>): 3293 (Csp-H), <3000 (Csp<sup>3</sup>-H), 2100 (C≡C), 1752(C=O), 1250, 1145, 986 (C-O)

#### 4.4. Síntesis y caracterización de bis(1,1-dimetiletilo)3,12-bis{[(1,1-dimetiletoxi) carbonil]amino}-7,8-ditio-2,4,11,13-tetraazatetradeca-3,11-dieno-1,14dioato (Di-(GBoc-SH))

En un matraz de fondo redondo con 2 bocas bajo atmósfera de Ar, se añade DMF seco (7 mL), diclorohidrato de cistamina (690 mg, 2.94 mmol), TEA (2.48 mL, 17.61 mmol) y 1,3'-bis(terc-butoxicarbonil)-2-metil-2-tiopseudourea (2 g, 6.75 mmol) y se agita a RT durante 24h. A continuación, se adiciona DCM (100 mL) a la mezcla y se realiza una extracción líquido-líquido con agua (3x80 mL) y salmuera (1x80 mL). La fase orgánica se seca con MgSO<sub>4</sub> anhidro, se filtra, se evapora el filtrado con ayuda del rotavapor. El residuo se purifica por cromatografía en columna de sílica gel usando como eluyente Hex:AcOEt 92:8 a 5:5, se evapora a sequedad y se obtiene un sólido blanco como producto.

Rendimiento: 43%

**<sup>1</sup>H-RMN** (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ (ppm): 11.47 (s, 2H), 8.62 (s, 2H), 3.77 (c, 4H, J=6.2 Hz), 2.88 (t, 4H, J= 6.3 Hz), 1.49 (s, 36H)

**<sup>13</sup>C-RMN** (100 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ (ppm): 163.62, 156.30, 153.25, 83.34, 79.44, 39.32, 39.23, 28.32

**FTIR** (KBr, ν: cm<sup>-1</sup>): 3335 (N-H), <3000 (Csp<sup>3</sup>-H), 1735 (C=O), 1168 (C-O)

#### 4.5. Síntesis y caracterización de 2-mercaptoetilguanidina (GBoc-SH)

En un matraz de dos bocas se añade Di-(GBoc-SH) (500 mg, 0.783 mmol) bajo atmósfera de Ar, tras esto se disuelve en THF seco (16 mL) y se añade DTT (362.46 mg, 2.35 mmol). A continuación, se adiciona gota a gota TEA hasta alcanzar un pH = 9.0 y se deja 24h agitando. Tras evaporar hasta sequedad, el residuo se purifica por cromatografía en columna de sílica gel usando Hex:AcOEt 8:2 como eluyente, y se seca con ayuda del rotavapor obteniendo un sólido blanco.

Rendimiento: 98%

**<sup>1</sup>H RMN** (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ (ppm): 11.49 (s, 1H), 8.66 (s, 1H), 3.63 (c, 2H, J=6.4 Hz), 2.73 (dt, 2H, J= 6.7 Hz, J=8.8 Hz), 1.50 (s, 18H), 1.42 (t, 1H, J=8.5 Hz)

**<sup>13</sup>C-RMN** (100 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ (ppm): 163.623, 156.30, 153.29, 83.36, 79.49, 47.70, 28.25, 24.32

**FTIR** (KBr, ν: cm<sup>-1</sup>): 3338 (N-H), <3000 (Csp<sup>3</sup>-H), 2340 (S-H), 1737 (C=O), 1164 (C-O)

#### 4.6. Síntesis y caracterización de P(MPC)-GBoc

En un vial de reacción bajo atmósfera de Ar se añaden P(MPC) (70 mg, 0.02 mmol), GBoc-SH (1.1 g, 3.45 mmol) y THF seco (3 mL) como disolvente. A continuación, se deja borboteando Ar durante 20 min. Tras la adición de 2,2-dimetoxi-2-fenilacetofenona (4.4 mg, 0.017 mmol), se deja reaccionando durante 3 h a temperatura ambiente y bajo una lámpara de Hg Philips PL-S 9W con máximo de emisión a 365 nm. Una vez acabada la reacción se evapora a sequedad y se precipita en metanol frío obteniendo el producto como un sólido blanco.

Rendimiento: 36%

**<sup>1</sup>H RMN** (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ (ppm): 11.44 (sa, 34H), 8.60 (sa, 34H), 7.39-7.30 (m, 5H), 5.14 (s, 2H), 4.46-4.18 (m, 102H), 3.68-3.53 (m, 68H), 3.21-3.11 (m, 17H), 2.89-2.72 (m, 102H), 1.50-1.45 (m, 612H), 1.28 (s, 51H)

**FTIR** (KBr, ν: cm<sup>-1</sup>): 3335 (N-H), <3000 (Csp<sup>3</sup>-H), 2343 (S-H), 1732 (C=O), 1632 (N-H), 1134 (C-O)

#### 4.7. Síntesis y caracterización de P(MPC)-G

En un matraz de fondo redondo se añade P(MPC)-GBoc (90 mg, 0.0063 mmol), DCM (9 mL) y TFA (1 mL) y se deja reaccionando durante 17 h a RT. Tras la eliminación del disolvente a vacío, el aceite obtenido se disuelve en EtOH y se precipita 3 veces en éter frío obteniendo un sólido céreo de color blanco nacarado. Finalmente, se disuelve el producto en agua y se liofiliza dando lugar a un sólido blanco.

Rendimiento: 56%

**<sup>1</sup>H RMN** (400 MHz, CD<sub>3</sub>OD) δ (ppm): 7.39-7.34 (m, 5H), 5.17 (s, 2H), 4.47-4.27 (m, 102H), 3.49-3.40 (m, 68H), 3.20 (m, 17H), 2.93-2.79 (m, 102H), 1.30 (s, 51H)

**<sup>19</sup>F-RMN**: (376.5 MHz, CD<sub>3</sub>OD) δ (ppm): -73.84 (1F)

**FTIR** (KBr, ν: cm<sup>-1</sup>): 3190 (N-H), 1753 (C=O), 1247, 1196, 1130 (C-O)

#### 4.8. Síntesis y caracterización de P(MPC)-GBoc<sub>0.75</sub>-st-Bn<sub>0.25</sub>

En un vial de reacción bajo atmósfera de Ar se añaden P(MPC) (70 mg, 0.02 mmol), GBoc-SH (819.95 mg, 2.57 mmol), fenilmetanotiol (106.36 mg, 0.86 mmol) y THF seco (3 mL) como disolvente. A continuación, se cubre con aluminio y se deja pasar Ar durante 20 minutos. Tras esto se añade 2,2-dimetoxi-2-fenilacetofenona (4.4 mg, 0.017 mmol), se deja agitando a RT bajo una lámpara de Hg

Philips PL-S 9W con máximo de emisión a 365 nm. Transcurridas 5h desde el inicio de la reacción, se añade DMPA de nuevo (4.4 mg, 0.017 mmol). Tras 8.5h, se seca con ayuda del rotavapor y se precipita en metanol frío (2x50 mL). Se realiza una columna de separación por tamaños (Bio-Beads®) usando como eluyente THF. Se evapora el disolvente, y se realiza una precipitación en MeOH frío (40 mL) y tres lavados.

Rendimiento: 40%

**<sup>1</sup>H RMN** (400 MHz, CD<sub>3</sub>COCD<sub>3</sub>) δ (ppm): 11.64 (sa, 20H), 8.53 (sa, 20H), 7.6-7.0 (m, 75H), 5.16 (s, 2H), 4,32 (m, 109H), 3.9-3.3 (m, 80 H), 1.47 (m, 368H), 1,27 (sa, 51H)

**FTIR** (KBr, ν: cm<sup>-1</sup>): 3338 (N-H), <3000 (Csp<sup>3</sup>-H), 1756 (C=O)

#### 4.9. Síntesis y caracterización de P(MPC)-G<sub>0.75</sub>-st-Bn<sub>0.25</sub>

En un matraz de fondo redondo se añade P(MPC)-G<sub>0.75</sub>-st-Bn<sub>0.25</sub> (47.2 mg), DCM (9 mL) y TFA (1 mL) y se deja reaccionando durante 18 h a RT. Tras la eliminación del disolvente a vacío, el aceite obtenido se disuelve en EtOH, se precipita 1 vez en 30 mL éter frío y se lava 3 veces con éter frío. Finalmente, se disuelve el producto en agua y se liofiliza dando lugar a un sólido blanco.

Rendimiento: 89%

**<sup>19</sup>F-RMN:** (376.5 MHz, CD<sub>3</sub>OD) δ (ppm): -76.69 (1F)

**FTIR** (KBr, ν: cm<sup>-1</sup>): 3381 (N-H), <3000 (Csp<sup>3</sup>-H), 1753 (C=O), 1252, 1200, 1135 (C-O)

#### 4.10. Síntesis y caracterización de P(MPC)-GBoc<sub>0.5</sub>-st-Bn<sub>0.5</sub>

En un vial de reacción bajo atmósfera de Ar se añaden P(MPC) (70 mg, 0.02mmol), GBoc-SH (546.63 mg, 1.71 mmol), fenilmetanotiol (212.72 mg, 1.71 mmol) y THF seco (3 mL) como disolvente. Tras 20 min borboteando, se añade 2,2-dimetoxi-2-fenilacetofenona (4.4 mg, 0.017 mmol), se introduce en una caja con lámpara UV y se enciende la lámpara a la vez que se agita a RT. Transcurridas 5h desde el inicio de la reacción, se añade DMPA de nuevo (4.4 mg, 0.017 mmol). Tras 8.5h, se seca con ayuda del rotavapor y se precipita en metanol frío (2x50 mL).

Rendimiento: 47%

**<sup>1</sup>H RMN** (400 MHz, CD<sub>3</sub>COCD<sub>3</sub>) δ (ppm): 11.64 (9H), 8.53 (9H), 7.6-7.00 (80H), 5.16 (s, 2H), 4,32 (m, 102H), 1.47(162H), 1,27 (51H)

**FTIR** (KBr, ν: cm<sup>-1</sup>): 3338 (N-H), >3000(Csp<sup>2</sup>-H), <3000 (Csp<sup>3</sup>-H), 2129 (C≡C), 1756 (C=O), 1642 (C=C), 1250, 1125 (C-O)

#### 4.11. Síntesis y caracterización de P(MPC)-G<sub>0.5</sub>-st-Bn<sub>0.5</sub>

En un matraz de fondo redondo se añade P(MPC)-GBoc<sub>0.5</sub>-st-Bn<sub>0.5</sub> (38.4 mg), DCM (9 mL) y TFA (1 mL) y se deja reaccionando durante 18 h a RT. Tras la eliminación del disolvente a vacío, el aceite obtenido se disuelve en EtOH y se precipita sobre éter frío (3x30 mL). Finalmente, se añade agua formándose una suspensión y se liofiliza dando lugar a un sólido blanco.

Rendimiento: 52%

**<sup>19</sup>F-RMN:** (376.5 MHz, CD<sub>3</sub>OD) δ (ppm): -76.76 (1F)

**FTIR** (KBr, ν: cm<sup>-1</sup>): 3390 (N-H), <3000 (Csp<sup>3</sup>-H), 2130 (C≡C), 1749 (C=O), 1246, 1135 (C-O)

## 5. CONCLUSIONES

En este Trabajo de Fin de Grado se ha llevado a cabo la síntesis y caracterización de una serie de materiales obtenidos a partir de un carbonato cíclico derivado del bis-MPA. De acuerdo con los resultados se puede concluir:

- La técnica de polimerización ROP de carbonatos cíclicos derivados de bis-MPA, empleando TU/DBU como sistema organocatalítico, permite conseguir policarbonatos de forma controlada si se evitan conversiones elevadas en las que empieza a observarse otras distribuciones, previsiblemente debidas a reacciones análogas a transesterificación.
- La incorporación de hasta 2 grupos guanidina por unidad repetitiva mediante el uso de tioles apropiados y la reacción de tiol-ino puede lograrse forzando las condiciones de reacción.
- Se ha llevado a cabo la funcionalización variando la proporción de grupos entrantes con dos tioles diferentes. Tras esto se ha comprobado que no en todas las ocasiones ha tenido lugar la funcionalización completa, ya que al aumentar el % de grupos hidrófobos derivados de fenilmetanotiol, la reacción no prosigue, ni aumentando el tiempo de reacción ni por adición de más fotoiniciador.
- Aunque se alimente una proporción inicial en la funcionalización, la relación final entre los grupos guanidinio y los Bn-SH es diferente, favoreciéndose la entrada de Bn-SH.
- Para los polímeros con completa funcionalización y mayor porcentaje de grupos guanidinio los productos son fácilmente dispersables en agua.
- Se ha realizado un estudio de la morfología y tamaño de los agregados que forman los dos productos dispersables en agua, observando en ambos la formación de agregados esféricos, si bien hay discrepancia entre los valores de TEM y DLS.
- Los primeros resultados en el grupo del Prof. M. Arruebo (CIBA) muestran que el polímero P(MPC)-G presenta actividad bactericida que es el primer paso para futuras investigaciones con este tipo de materiales.

En cuanto a los objetivos formativos, este TFG ha permitido mi formación en síntesis orgánica, en las técnicas habituales de aislamiento y purificación de compuestos orgánicos estudiadas, ampliando los conocimientos vistos sobre su aplicación en polímeros. También se ha conseguido una familiarización tanto con las técnicas espectroscópicas (FTIR, RMN), como con los análisis de masas, además de conocer otros métodos para caracterizar los materiales obtenidos como TEM, GPC o DLS.

Finalmente, la realización de este trabajo me ha permitido conocer más de cerca la ciencia de materiales y comprender todo lo que la química, y en concreto la química orgánica, tiene por aportar a sus diferentes campos de aplicación, como es en este caso el relacionado con la Salud.

## 6. BIBLIOGRAFÍA

- (1) Callister, W. D.; Rethwisch. *Ciencia e Ingeniería de Materiales*, 2ª edición.; Reverté 2016: Barcelona .
- (2) Areizaga, J.; Cortázar, M. M.; Elorza, José. M.; Iruin, J. J. *Polímeros* ; Editorial Síntesis, 2002.
- (3) *Normativas y regulaciones para polímeros biodegradables y compostables*. <https://www.plastico.com/temas/Normativas-y-regulaciones-para-polimeros-biodegradables-y-compostables+126663> (accessed 2022-06-21).
- (4) Artham, T.; Doble, M. Biodegradation of Aliphatic and Aromatic Polycarbonates. *Macromol. Biosci.* **2008**, 8 (1), 14–24. <https://doi.org/10.1002/MABI.200700106>.
- (5) Vallet Regí, M.; Munuera, L. *Biomateriales: Aquí y Ahora* ; Editorial Dykinson, 2000.
- (6) Nair, L. S.; Laurencin, C. T. Biodegradable Polymers as Biomaterials. *Prog. Polym. Sci.* **2007**, 32 (8–9), 762–798. <https://doi.org/10.1016/J.PROGPOLYMSCI.2007.05.017>.
- (7) Chen, W.; Meng, F.; Cheng, R.; Deng, C.; Feijen, J.; Zhong, Z. Advanced Drug and Gene Delivery Systems Based on Functional Biodegradable Polycarbonates and Copolymers. *J. Control. Rel.* **2014**, 190, 398–414. <https://doi.org/10.1016/J.JCONREL.2014.05.023>.
- (8) Xu, J.; Feng, E.; Song, J. Renaissance of Aliphatic Polycarbonates: New Techniques and Biomedical Applications. *J. Appl. Polym. Sci.* **2014**, 131 (5). <https://doi.org/10.1002/APP.39822/ABSTRACT>.
- (9) Nuyken, O.; Pask, S. D. Ring-Opening Polymerization—An Introductory Review. *Polymers* **2013**, 5 (2), 361–403. <https://doi.org/10.3390/POLYM5020361>.
- (10) Liu, Z. L.; Zhou, Y.; Zhuo, R. X. Synthesis and Properties of Functional Aliphatic Polycarbonates. *J. Polym. Sci.: Polym. Chem.* **2003**, 41 (24), 4001–4006. <https://doi.org/10.1002/POLA.11001>.
- (11) Chan, J. M. W.; Zhang, X.; Brennan, M. K.; Sardon, H.; Engler, A. C.; Fox, C. H.; Frank, C. W.; Waymouth, R. M.; Hedrick, J. L. Organocatalytic Ring-Opening Polymerization of Trimethylene Carbonate to Yield a Biodegradable Polycarbonate. *J. Chem. Ed.* **2015**, 92 (4), 708–713. <https://doi.org/10.1021/ed500595k>.
- (12) Lin, B.; Waymouth, R. M. Urea Anions: Simple, Fast, and Selective Catalysts for Ring-Opening Polymerizations. *J. Am. Chem. Soc.* **2017**, 139 (4), 1645–1652. <https://doi.org/10.1021/jacs.6b11864>.
- (13) Mespouille, L.; Coulembier, O.; Kawalec, M.; Dove, A. P.; Dubois, P. Implementation of Metal-Free Ring-Opening Polymerization in the Preparation of Aliphatic Polycarbonate Materials. *Prog. Polym. Sci.* **2014**, 39 (6), 1144–1164. <https://doi.org/10.1016/J.PROGPOLYMSCI.2014.02.003>.
- (14) Pratt, R. C.; Nederberg, F.; Waymouth, R. M.; Hedrick, J. L. Tagging Alcohols with Cyclic Carbonate: A Versatile Equivalent of (Meth)Acrylate for Ring-Opening Polymerization. *Chem. Commun.* **2007**, Vol. 1, 114–116. <https://doi.org/10.1039/B713925J>.

- (15) Ansari, I.; Singh, P.; Mittal, A.; Mahato, R. I.; Chitkara, D. 2,2-Bis(Hydroxymethyl) Propionic Acid Based Cyclic Carbonate Monomers and Their (Co)Polymers as Advanced Materials for Biomedical Applications. *Biomaterials* **2021**, 275. <https://doi.org/10.1016/j.biomaterials.2021.120953>.
- (16) García-Gallego, S.; Nyström, A. M.; Malkoch, M. Chemistry of Multifunctional Polymers Based on Bis-MPA and Their Cutting-Edge Applications. *Prog. Polym. Sci.* **2015**, 48, 85–110. <https://doi.org/10.1016/j.progpolymsci.2015.04.006>.
- (17) Tempelaar, S.; Mespouille, L.; Dubois, P.; Dove, A. P. Organocatalytic Synthesis and Postpolymerization Functionalization of Allyl-Functional Poly(Carbonate)s. *Macromolecules* **2011**, 44 (7), 2084–2091. <https://doi.org/10.1021/ma102882v>.
- (18) Kolb, H. C.; Finn, M. G.; Sharpless, K. B. Click Chemistry: Diverse Chemical Function from a Few Good Reactions. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2001**, 40 (11), 2004–2021. [https://doi.org/10.1002/1521-3773\(20010601\)40:11<2004::AID-ANIE2004>3.0.CO;2-5](https://doi.org/10.1002/1521-3773(20010601)40:11<2004::AID-ANIE2004>3.0.CO;2-5).
- (19) Lowe, A. B.; Hoyle, C. E.; Bowman, C. N. Thiol-Yne Click Chemistry: A Powerful and Versatile Methodology for Materials Synthesis. *J. Mat. Chem.* **2010**, 20(23), 4745–4750. <https://doi.org/10.1039/b917102a>.
- (20) Lowe, A. B. Thiol-Yne 'Click'/Coupling Chemistry and Recent Applications in Polymer and Materials Synthesis and Modification. *Polymer* **2014**, 55 (22), 5517–5549. <https://doi.org/10.1016/J.POLYMER.2014.08.015>.
- (21) O'Neill, J. *Tackling Drug-Resistant Infections Globally: Final Report and Recommendations*; Gov. U.K. **2016**. <https://doi.org/APO-63983>
- (22) *Resistencia a los antimicrobianos*. <https://www.who.int/es/news-room/fact-sheets/detail/antimicrobial-resistance> (accessed 2022-06-15).
- (23) Chin, W.; Zhong, G.; Pu, Q.; Yang, C.; Lou, W.; de Sessions, P. F.; Periaswamy, B.; Lee, A.; Liang, Z. C.; Ding, X.; Gao, S.; Chu, C. W.; Bianco, S.; Bao, C.; Tong, Y. W.; Fan, W.; Wu, M.; Hedrick, J. L.; Yang, Y. Y. A Macromolecular Approach to Eradicate Multidrug Resistant Bacterial Infections While Mitigating Drug Resistance Onset. *Nature Comm.* **2018**, 9 (1). <https://doi.org/10.1038/s41467-018-03325-6>.
- (24) Nederberg, F.; Zhang, Y.; Tan, J. P. K.; Xu, K.; Wang, H.; Yang, C.; Gao, S.; Guo, X. D.; Fukushima, K.; Li, L.; Hedrick, J. L.; Yang, Y. Y. Biodegradable Nanostructures with Selective Lysis of Microbial Membranes. *Nature Chem.* **2011**, 3 (5), 409–414. <https://doi.org/10.1038/nchem.1012>.
- (25) Hae Cho, C. A.; Liang, C.; Perera, J.; Liu, J.; Varnava, K. G.; Sarojini, V.; Cooney, R. P.; McGillivray, D. J.; Brimble, M. A.; Swift, S.; Jin, J. Molecular Weight and Charge Density Effects of Guanidinylated Biodegradable Polycarbonates on Antimicrobial Activity and Selectivity. *Biomacromolecules* **2018**, 19 (5), 1389–1401. <https://doi.org/10.1021/acs.biomac.7b01245>.
- (26) Tan, J.; Zhao, Y.; Hedrick, J. L.; Yang, Y. Y. Effects of Hydrophobicity on Antimicrobial Activity, Selectivity, and Functional Mechanism of Guanidinium-Functionalized Polymers. *Adv. Healthcare Mater.* **2022**, 11 (7). <https://doi.org/10.1002/adhm.202100482>.

- (27) Tan, E. W. P.; Hedrick, J. L.; Arrechea, P. L.; Erdmann, T.; Kiyek, V.; Lottier, S.; Yang, Y. Y.; Park, N. H. Overcoming Barriers in Polycarbonate Synthesis: A Streamlined Approach for the Synthesis of Cyclic Carbonate Monomers. *Macromolecules* **2021**, *54* (4), 1767–1774. <https://doi.org/10.1021/acs.macromol.0c02880>.
- (28) Roche Areta, A. Visible and NIR Responsive Nanocarriers from Amphiphilic Diblock Copolymers. Tesis Doctoral, Universidad de Zaragoza, 2020.
- (29) Bescós Ramo, S. Nanocarriers Based on Orthogonal Clickable Block Copolycarbonates. Trabajo de Fin de Máster, Universidad de Zaragoza, 2021.
- (30) Delcroix, D.; Martín-Vaca, B.; Bourissou, D.; Navarro, C. Ring-Opening Polymerization of Trimethylene Carbonate Catalyzed by Methanesulfonic Acid: Activated Monomer versus Active Chain End Mechanisms. *Macromolecules* **2010**, *43* (21), 8828–8835. <https://doi.org/10.1021/MA101461Y>.
- (31) Galve Murillo, I. Síntesis de Pirido[2,3-d]Pirimidin-7(8H)-Onas 2-Arilamino Sustituidas y Derivados. Tesis Doctoral, Universitat Ramon Llull, 2013.
- (32) Okada, S.; Matsusaki, M.; Arai, K.; Hidaka, Y.; Inaba, K.; Okumura, M.; Muraoka, T. Coupling Effects of Thiol and Urea-Type Groups for Promotion of Oxidative Protein Folding. *Chem. Comm.* **2019**, *55* (6), 759–762. <https://doi.org/10.1039/c8cc08657e>.
- (33) Lukesh, J. C.; Palte, M. J.; Raines, R. T. A Potent, Versatile Disulfide-Reducing Agent from Aspartic Acid. *J. Am. Chem. Soc.* **2012**, *134* (9), 4057–4059. <https://doi.org/10.1021/JA211931F>.
- (34) Narrainen, A. P.; Pascual, S.; Haddleton, D. M. Amphiphilic Diblock, Triblock, and Star Block Copolymers by Living Radical Polymerization: Synthesis and Aggregation Behavior. *Journal of Polymer Science, Part A: Polym. Chem.* **2002**, *40* (4), 439–450. <https://doi.org/10.1002/POLA.10122>.
- (35) Cho, C. A.; Liang, C.; Perera, J.; Brimble, M. A.; Swift, S.; Jin, J. Guanidinylated Amphiphilic Polycarbonates with Enhanced Antimicrobial Activity by Extending the Length of the Spacer Arm and Micelle Self-Assembly. *Macromol. Biosci.* **2020**, *20* (7). <https://doi.org/10.1002/mabi.202000065>.

## ANEXOS

### ANEXO A: Espectros $^1\text{H}$ -RMN, $^{19}\text{F}$ -RMN, $^{13}\text{C}$ -RMN, FTIR

#### 1. Síntesis y caracterización del éster precursor :2,2-bis(hidroximetil)propionato de propargilo

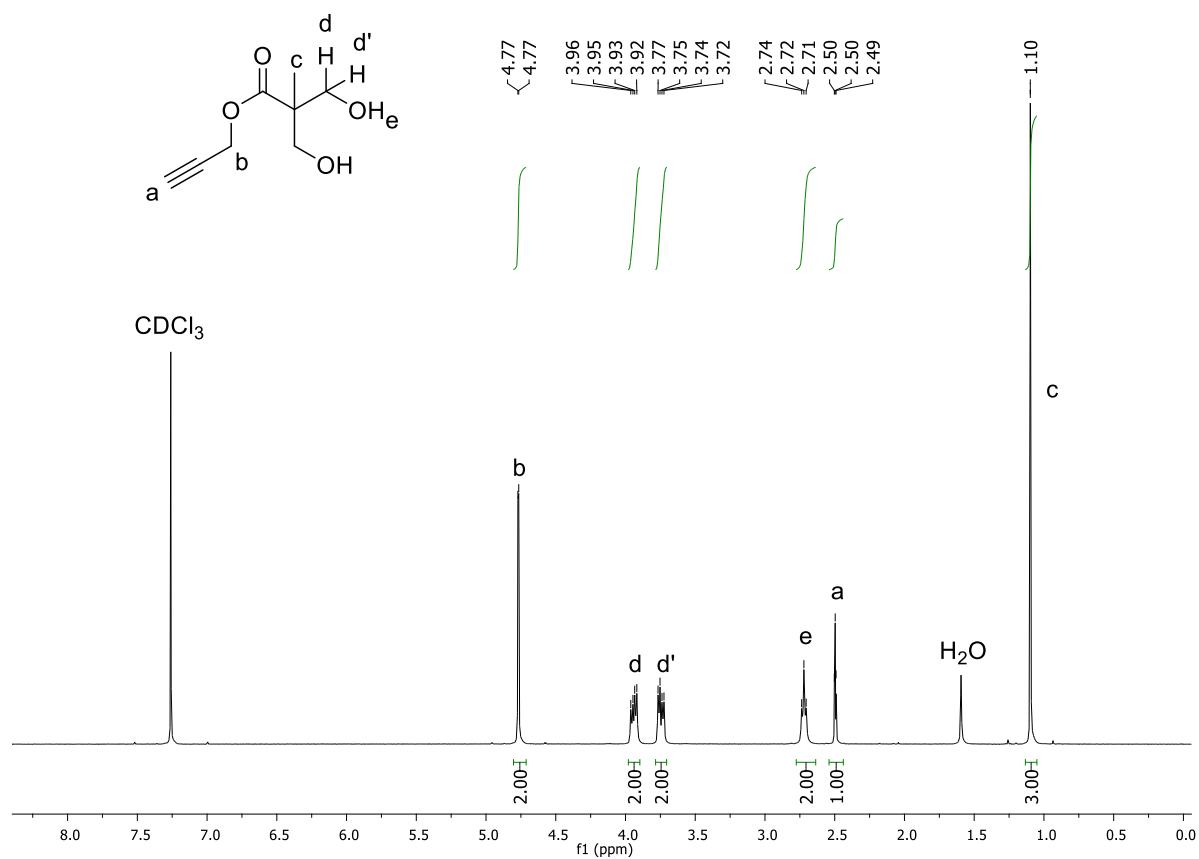


Figura A1: Espectro  $^1\text{H}$ -RMN (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  (ppm)

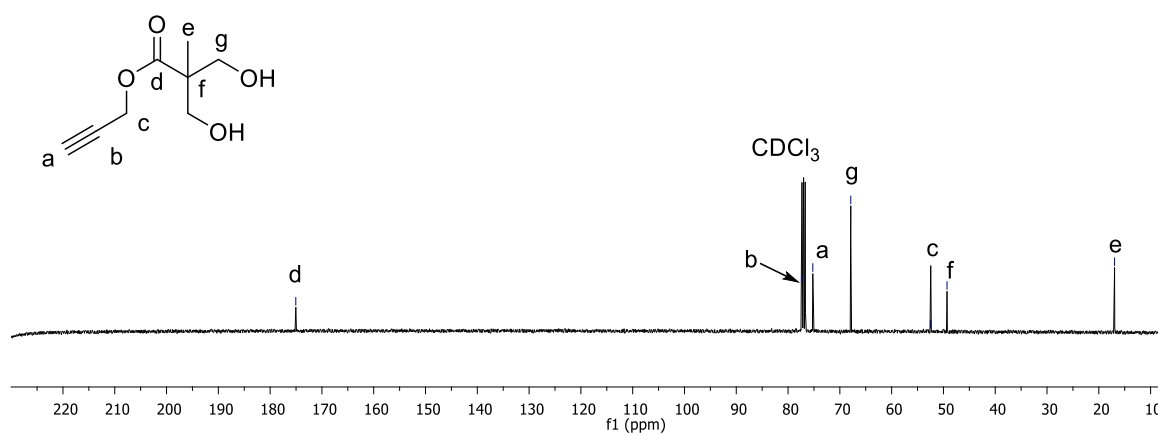
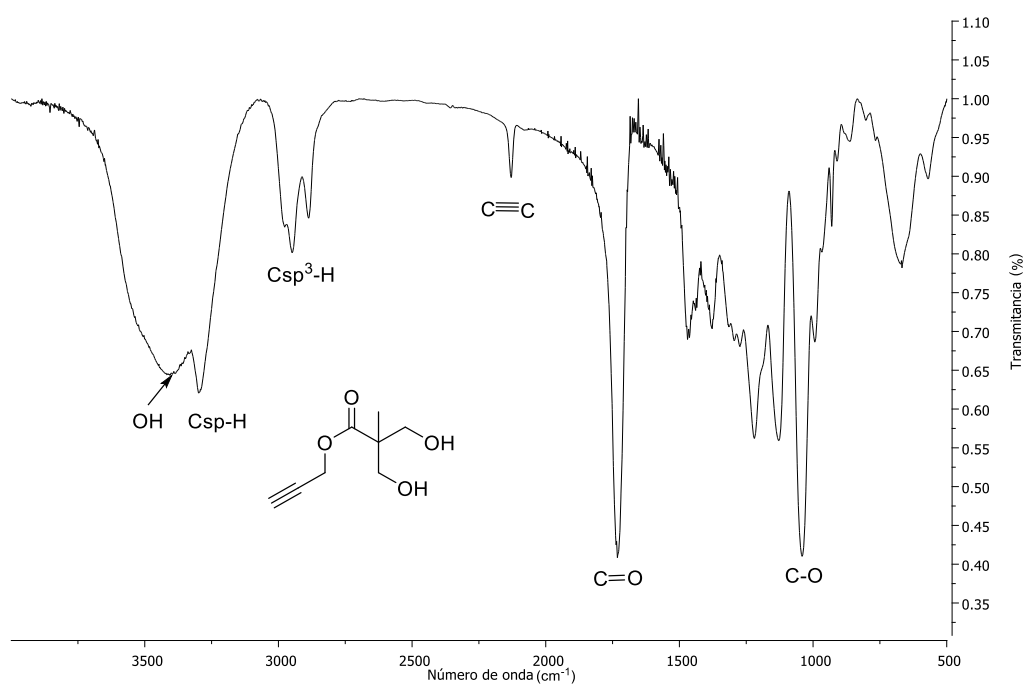
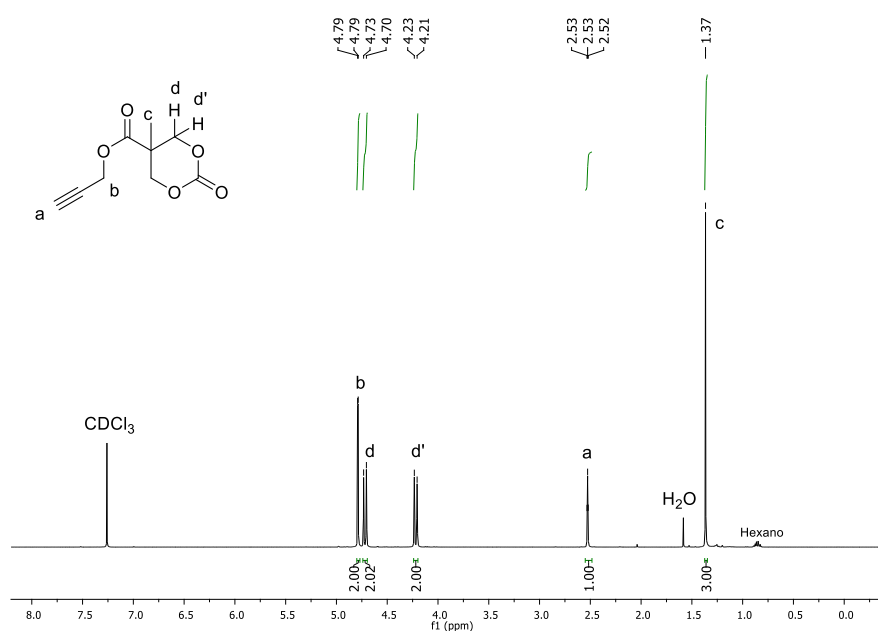


Figura A2 : Espectro  $^{13}\text{C}$ -RMN (100 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  (ppm)



## 2. Síntesis y caracterización de 5-metil-5-propargiloxycarbonil-1,3-dioxano-2-ona (MPC).



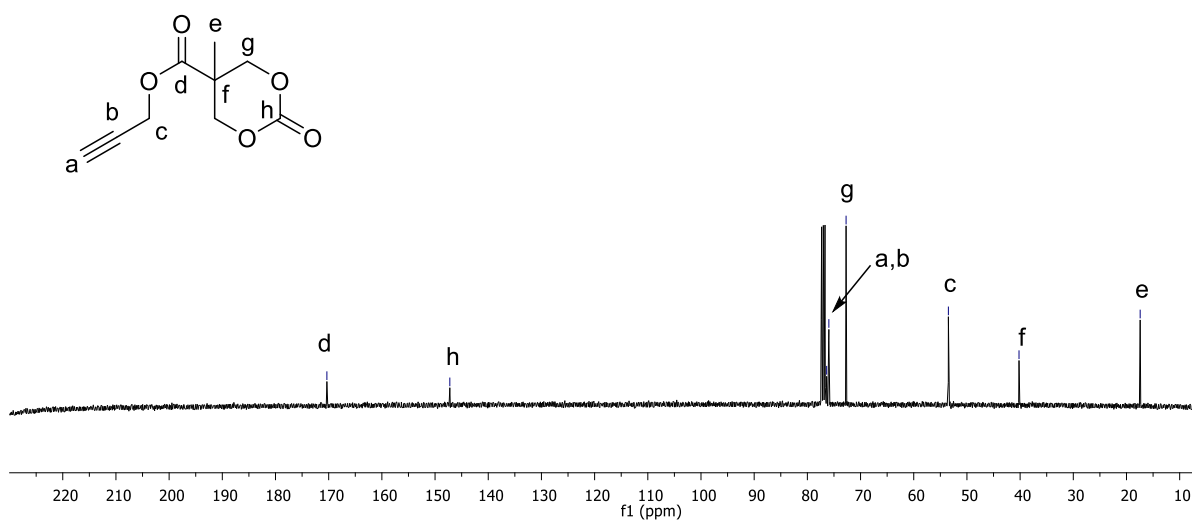


Figura A5 : Espectro  $^{13}\text{C}$ -RMN (100 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  (ppm)

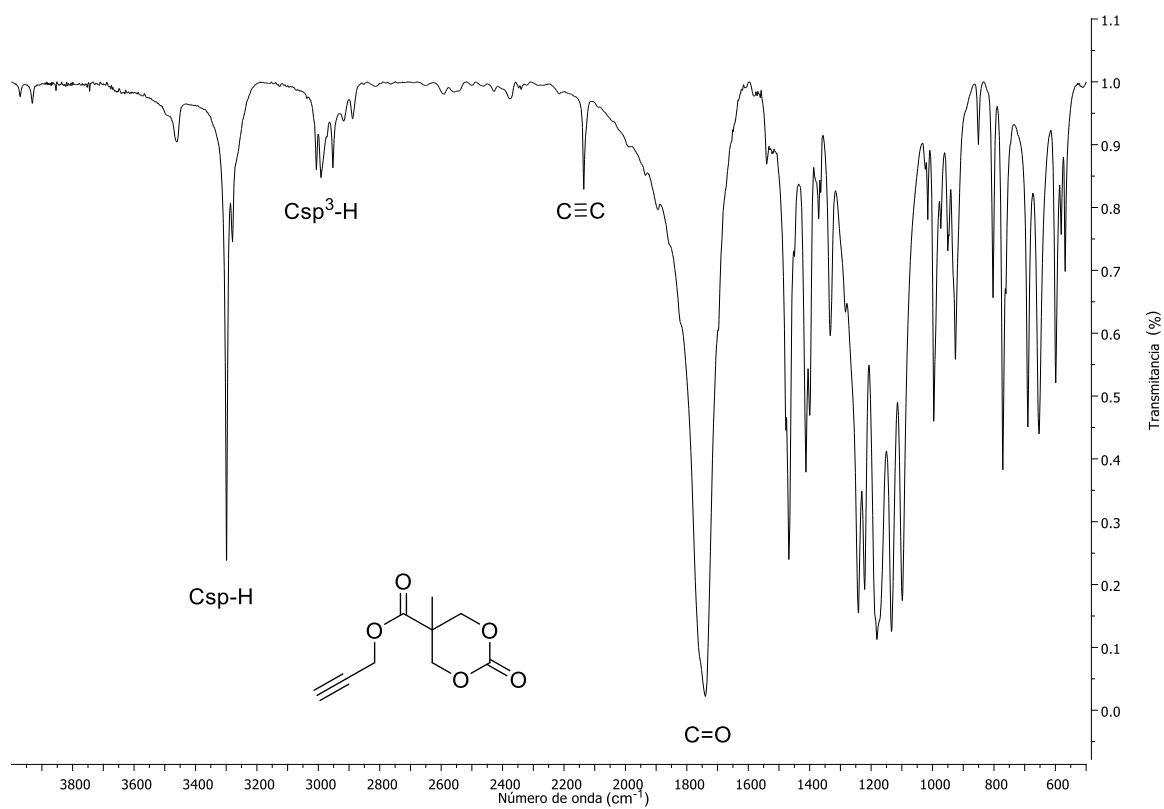


Figura A6: Espectro FTIR (KBr)  $\nu$ :  $\text{cm}^{-1}$

### 3. Síntesis y caracterización de P(MPC)

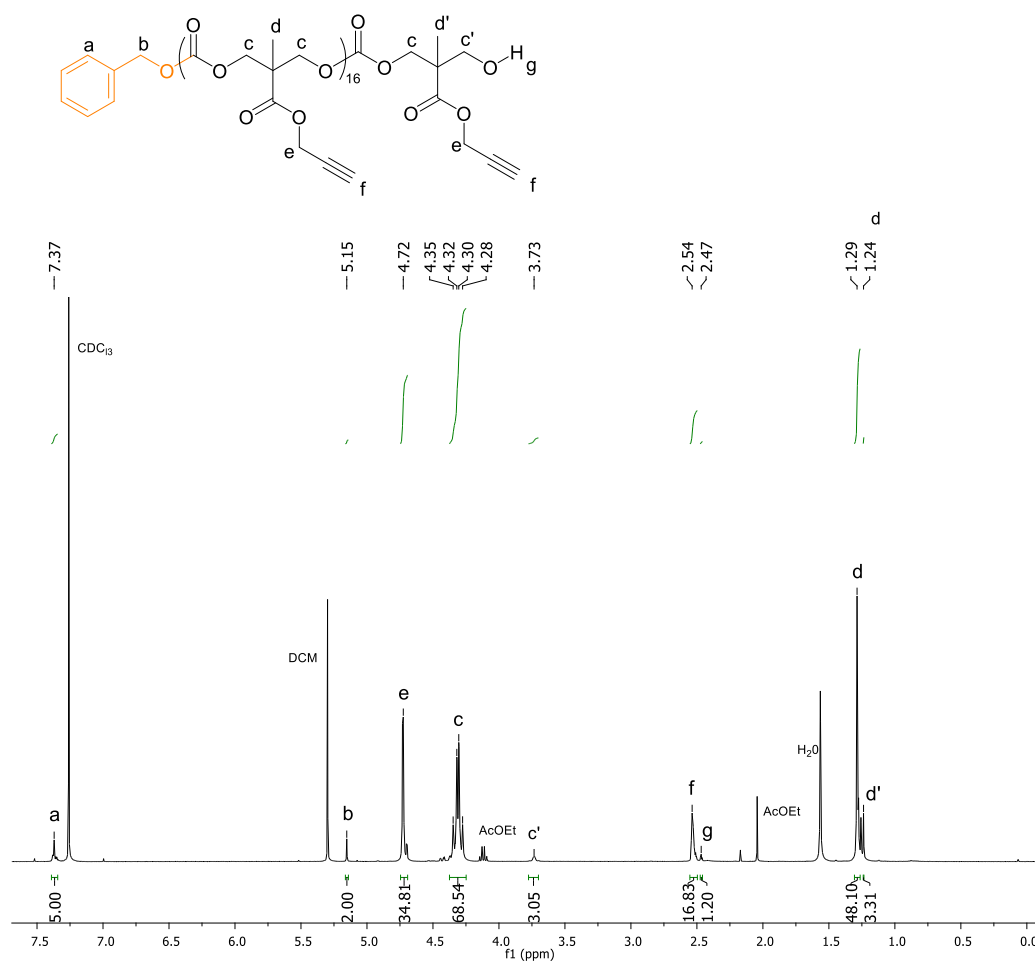


Figura A7: Espectro  $^1\text{H}$ -RMN (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  (ppm)

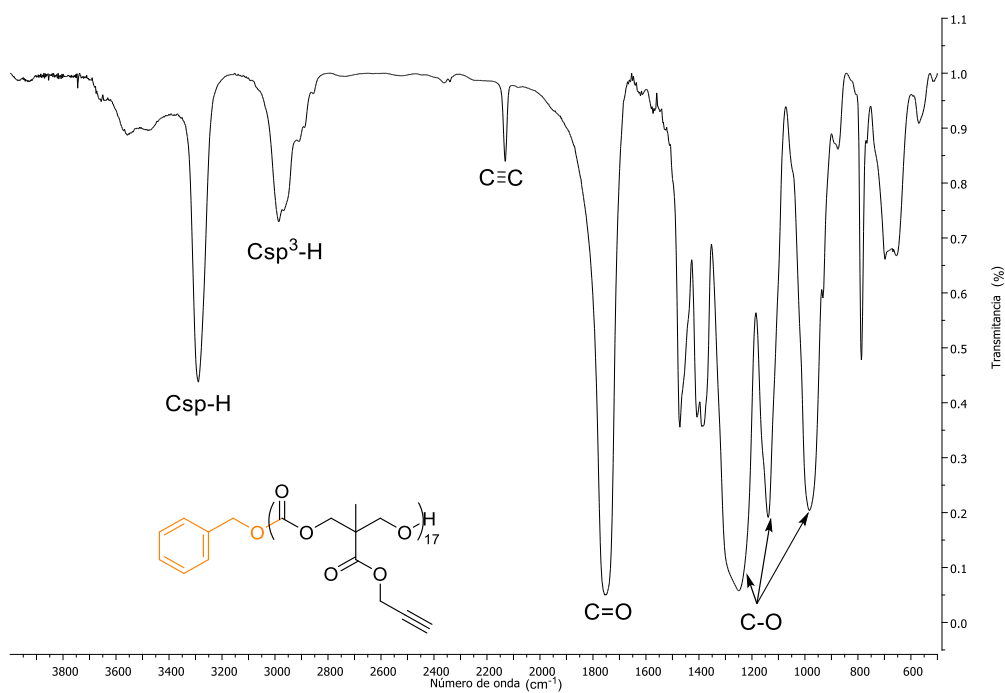


Figura A8: Espectro FTIR (KBr)  $\nu$ :  $\text{cm}^{-1}$

4. Síntesis y caracterización de bis(1,1-dimetiletilo)3,12-bis{[(1,1-dimetiletoxi)carbonil]amino}-7,8-ditio-2,4,11,13-tetraazatetradeca-3,11-dieno-1,14dioato (Di-(GBoc-SH))

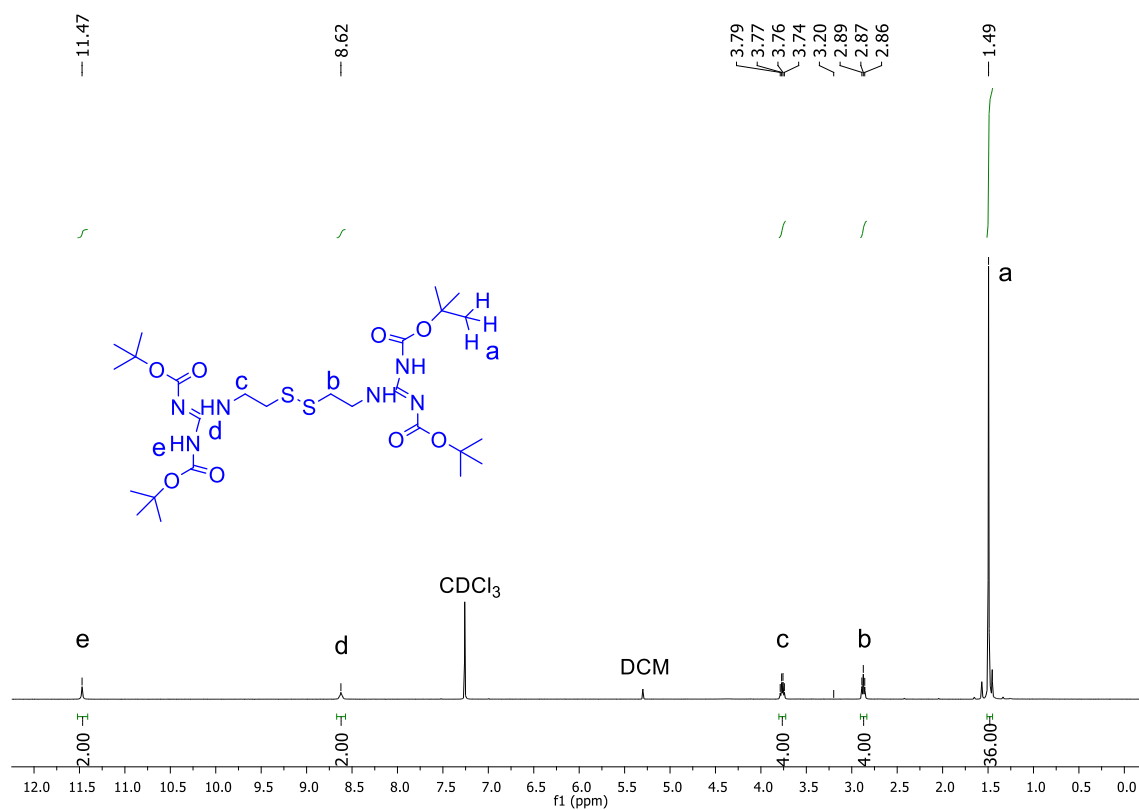


Figura A9: Espectro <sup>1</sup>H-RMN (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ (ppm)

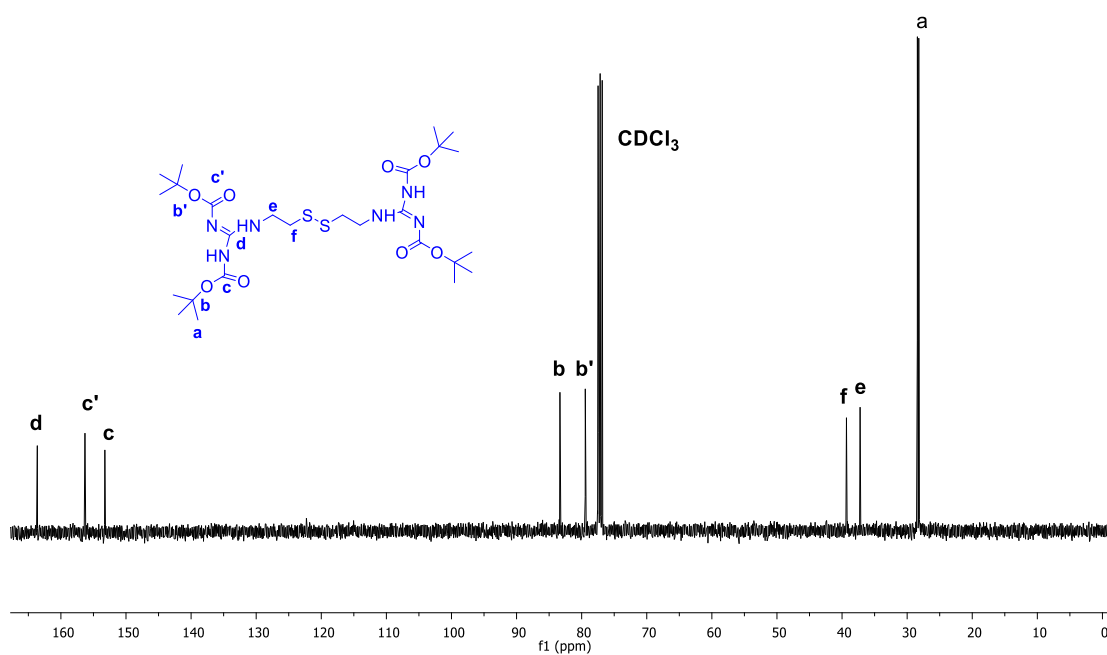


Figura A10: Espectro <sup>13</sup>C-RMN (100 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ (ppm)

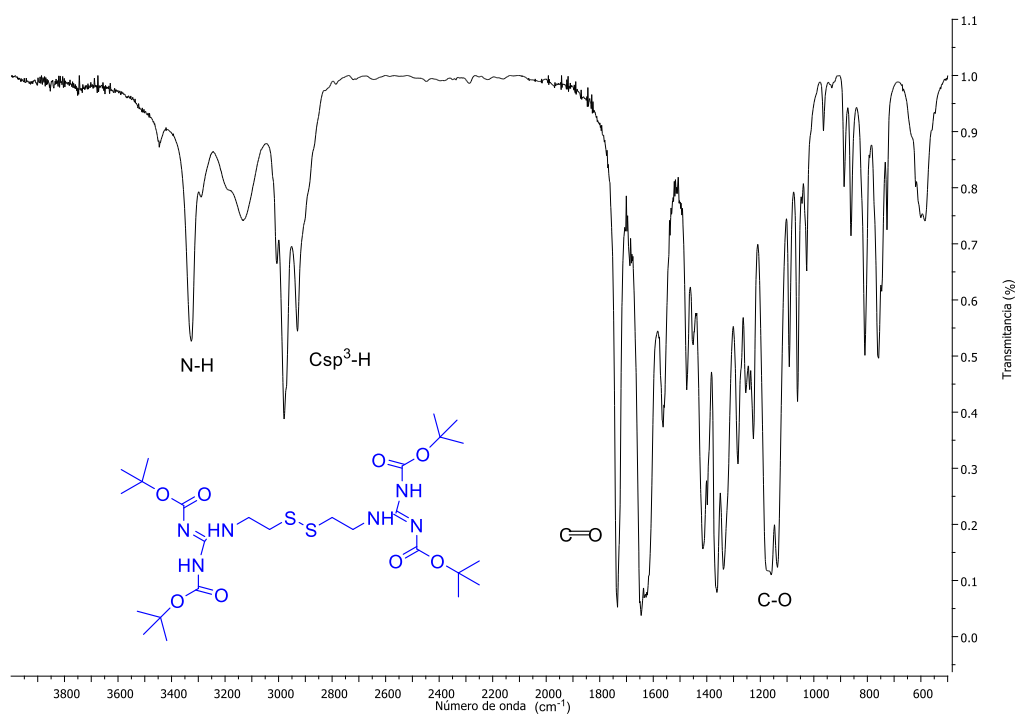


Figura A11: Espectro FTIR (KBr)  $\nu$ :  $\text{cm}^{-1}$

## 5. Síntesis y caracterización de GBoc-SH

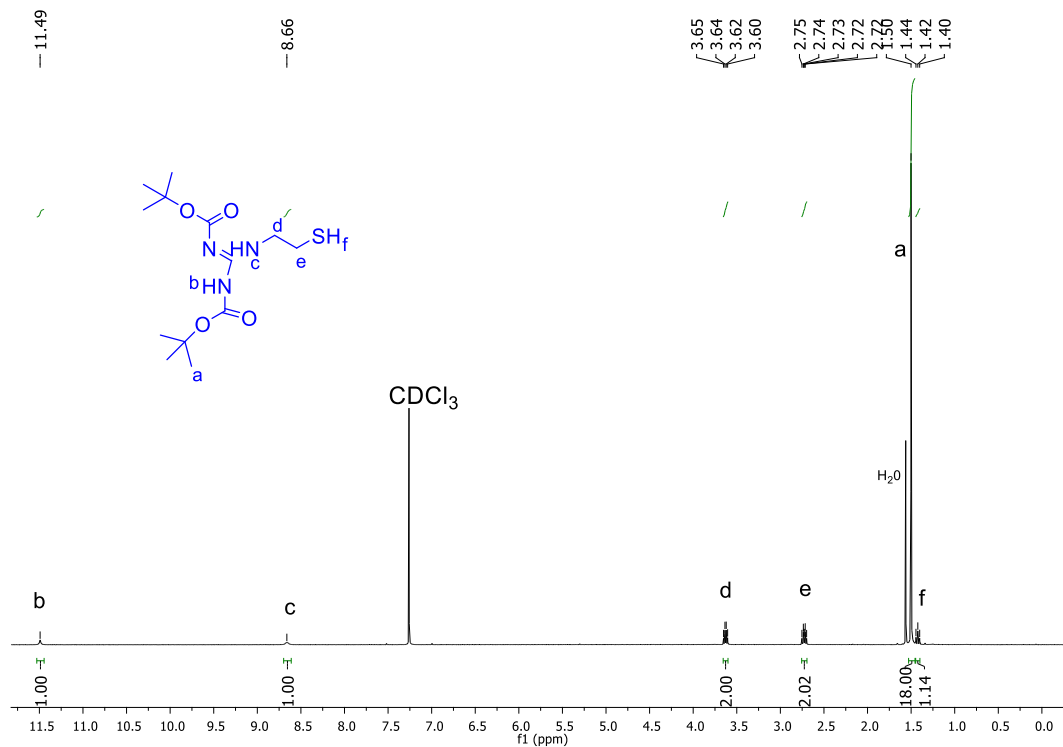


Figura A12: Espectro  $^1\text{H}$ -RMN (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  (ppm)

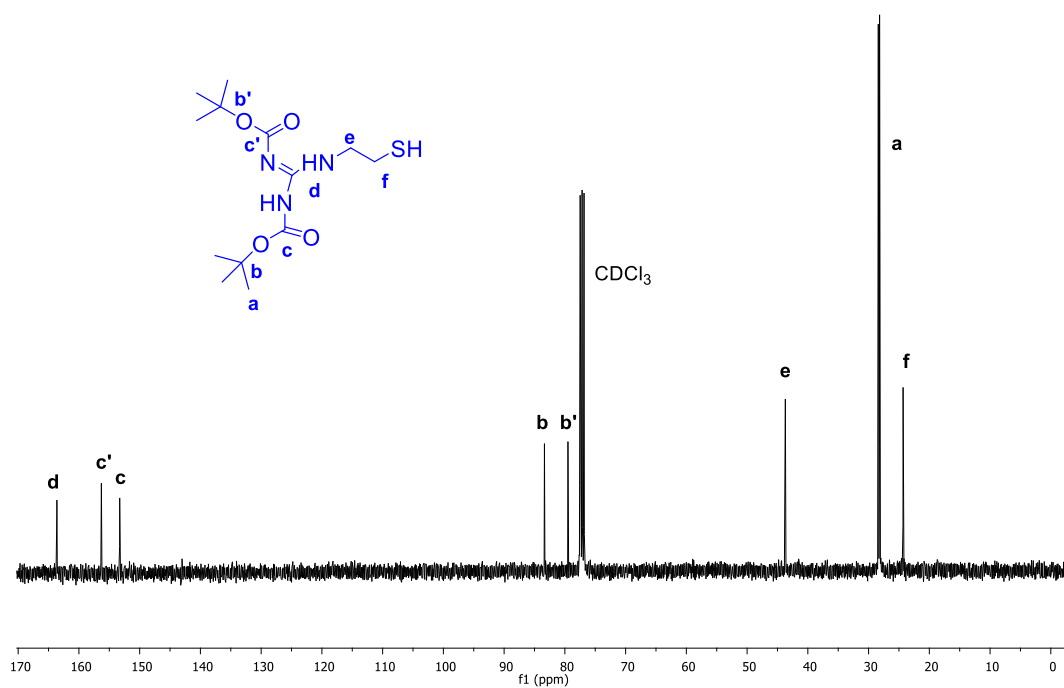


Figura A13: Espectro <sup>13</sup>C-RMN (100 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ (ppm)

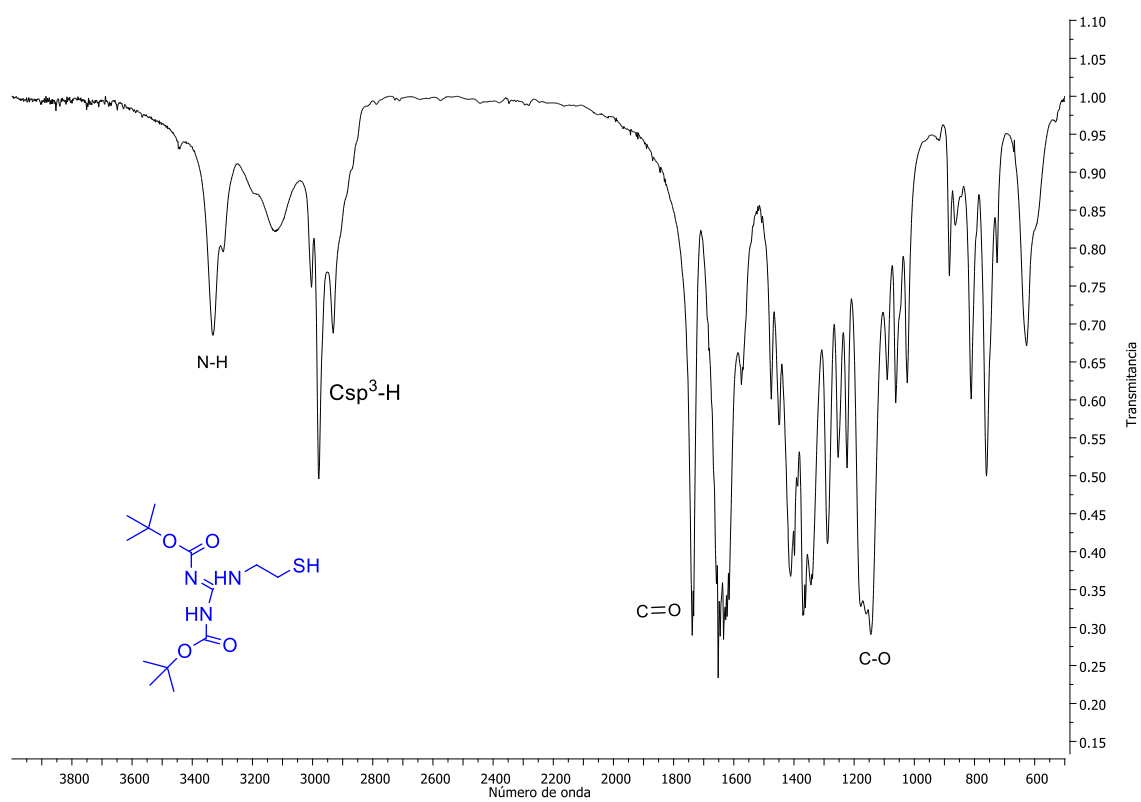


Figura A14: Espectro FTIR (KBr) ν: cm<sup>-1</sup>

## 6. Síntesis y caracterización de P(MPC)-GBoc

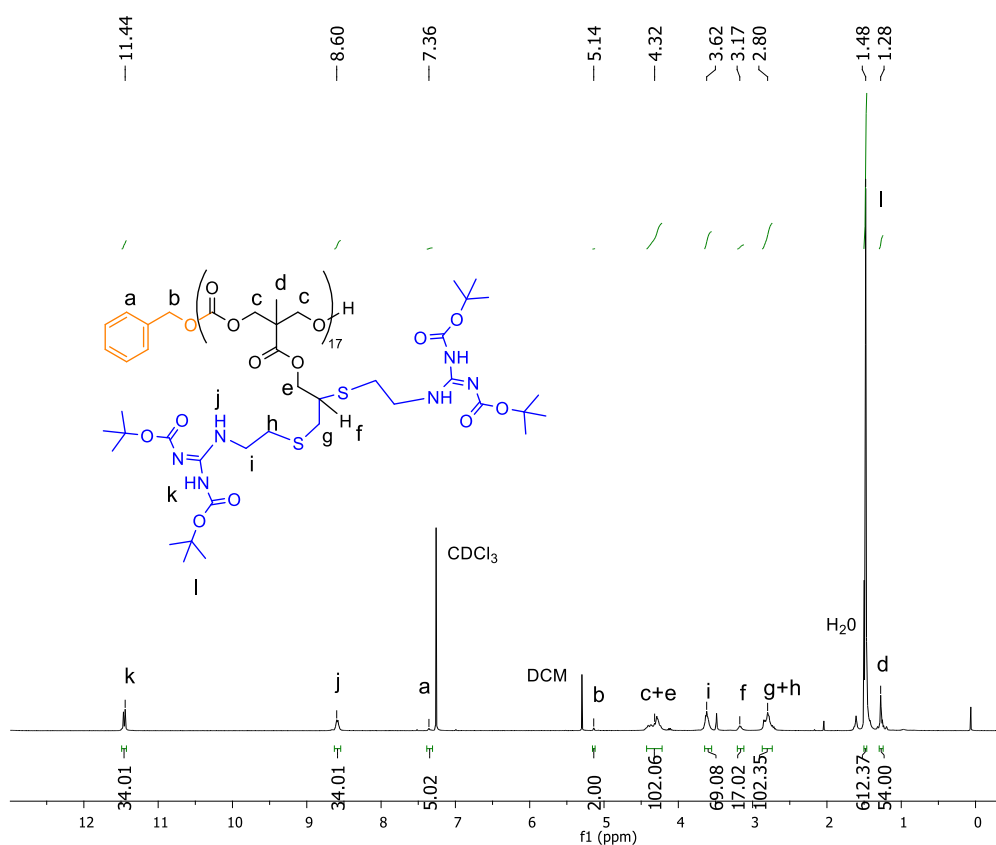


Figura A15: Espectro  $^1\text{H}$ -RMN (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  (ppm)

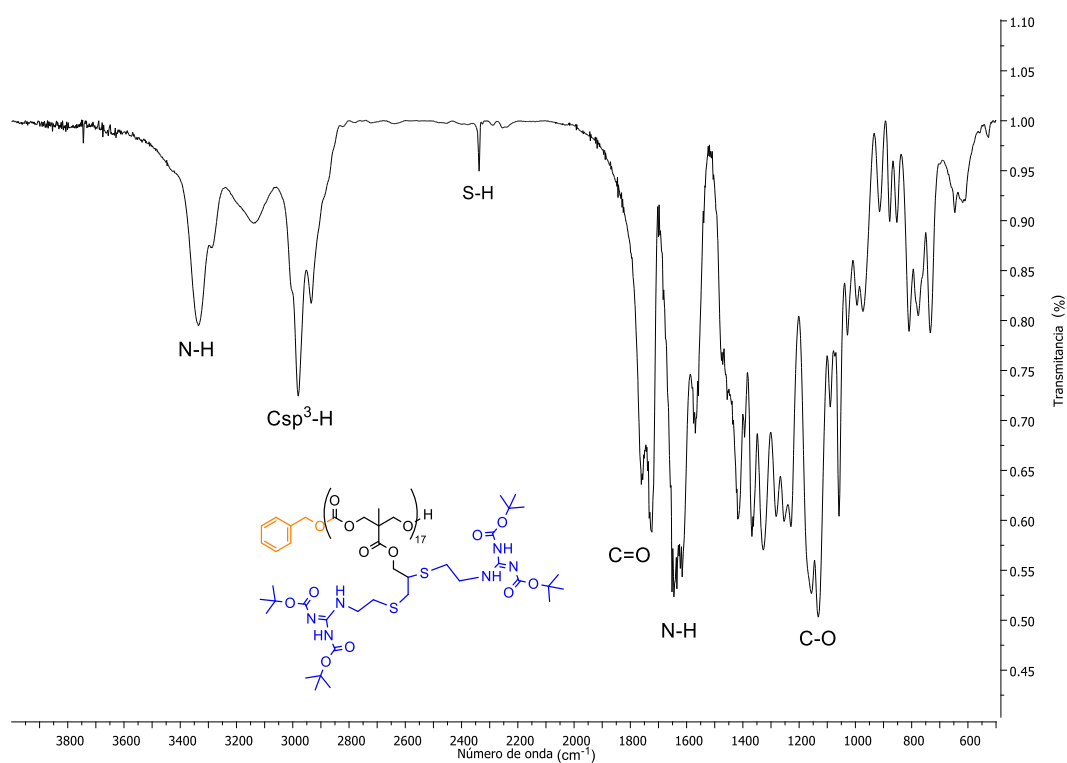


Figura A16: Espectro FTIR (KBr)  $\nu$ :  $\text{cm}^{-1}$

## 7. Síntesis y caracterización P(MPC)-G

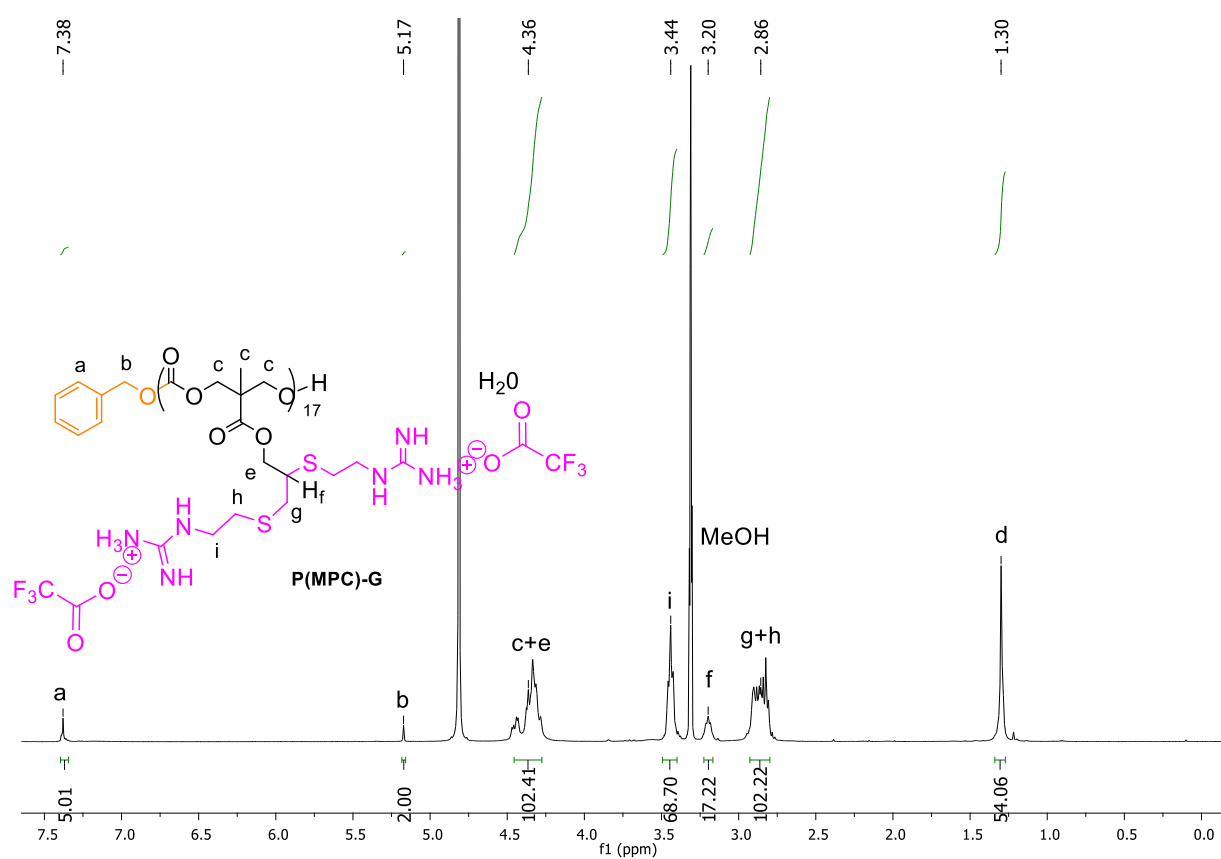


Figura A17: Espectro <sup>1</sup>H-RMN (400 MHz, CD<sub>3</sub>OD) δ (ppm)

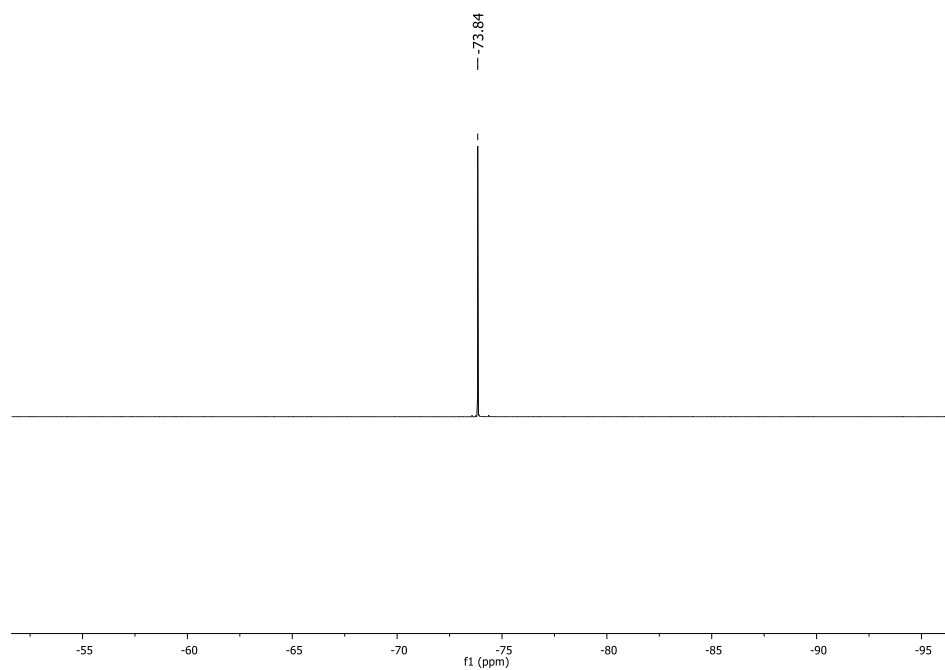


Figura A18: Espectro <sup>19</sup>F-RMN (376.5 MHz, CD<sub>3</sub>OD) δ (ppm)

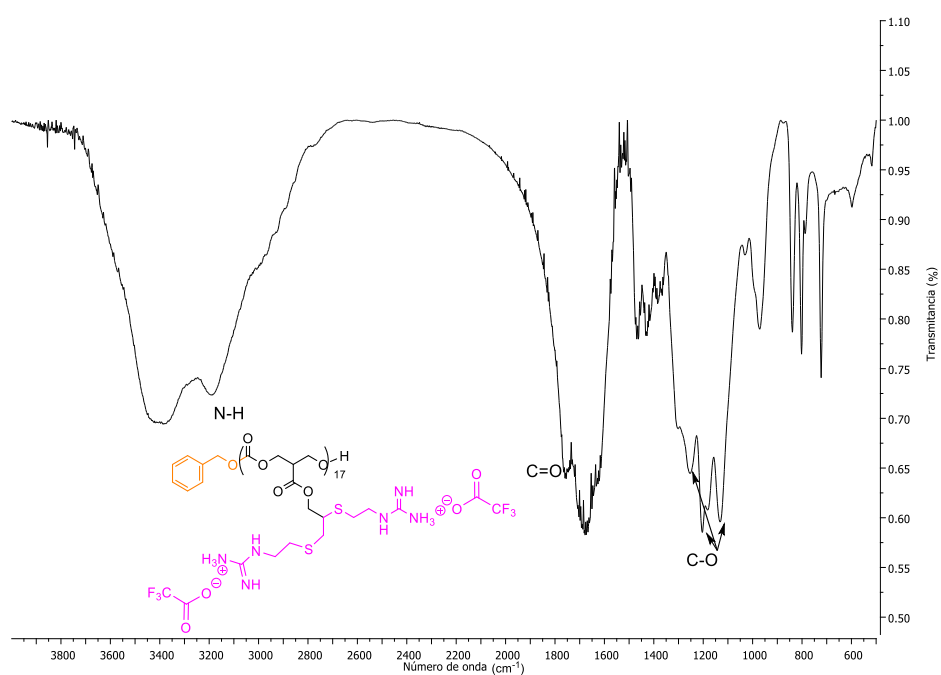


Figura A19: Espectro FTIR (KBr)  $\nu$ :  $\text{cm}^{-1}$

## 8. Síntesis y caracterización de P(MPC)-GBoc<sub>0.75</sub>-st-Bn<sub>0.25</sub>

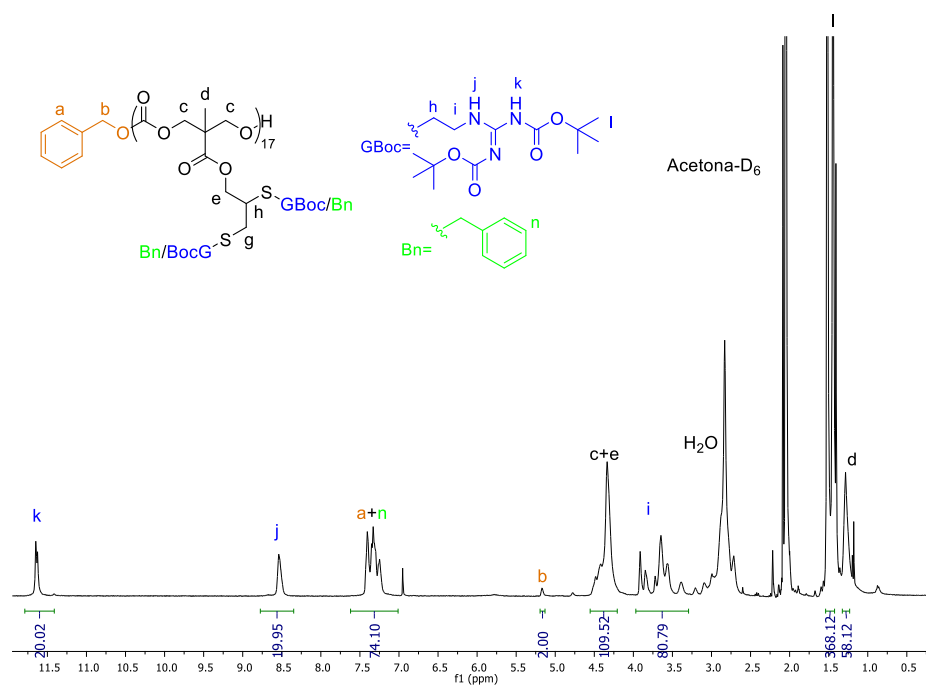


Figura A20: Espectro  $^1\text{H}$ -RMN (400 MHz,  $\text{CD}_3\text{COCD}_3$ )  $\delta$  (ppm)

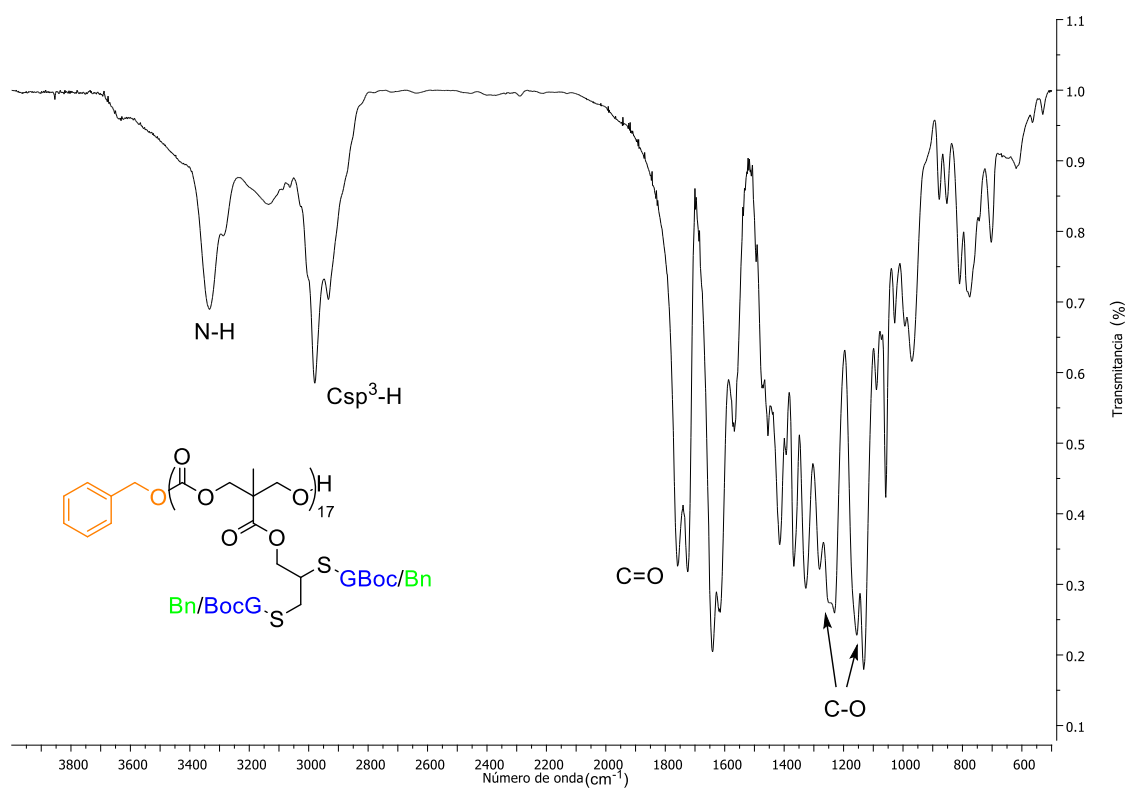


Figura A21: Espectro FTIR (KBr)  $\nu$ :  $\text{cm}^{-1}$

## 9. Síntesis y caracterización de P(MPC)-G<sub>0.75</sub>-st-Bn<sub>0.25</sub>

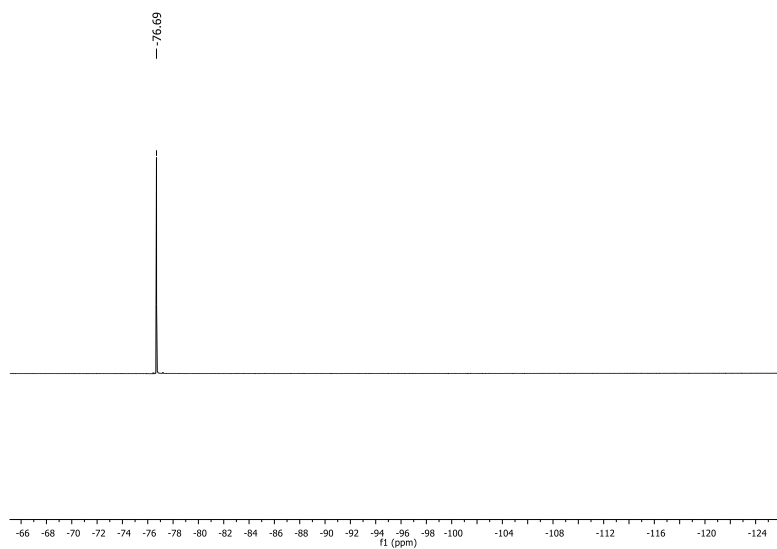


Figura A22: Espectro  $^{19}\text{F}$ -RMN (376.5 MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ )  $\delta$  (ppm)

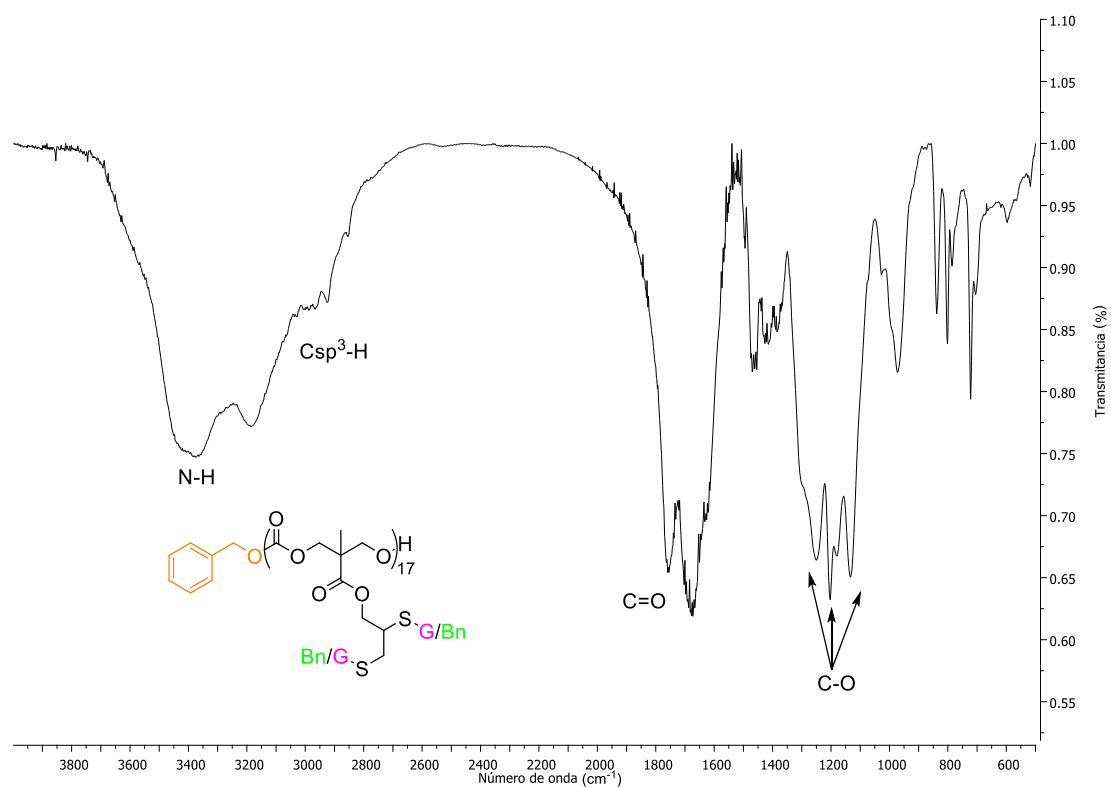


Figura A43: Espectro FTIR (KBr)  $\nu$ :  $\text{cm}^{-1}$

## 10. Síntesis y caracterización de P(MPC)-GBoc<sub>0.5</sub>-st-Bn<sub>0.5</sub>

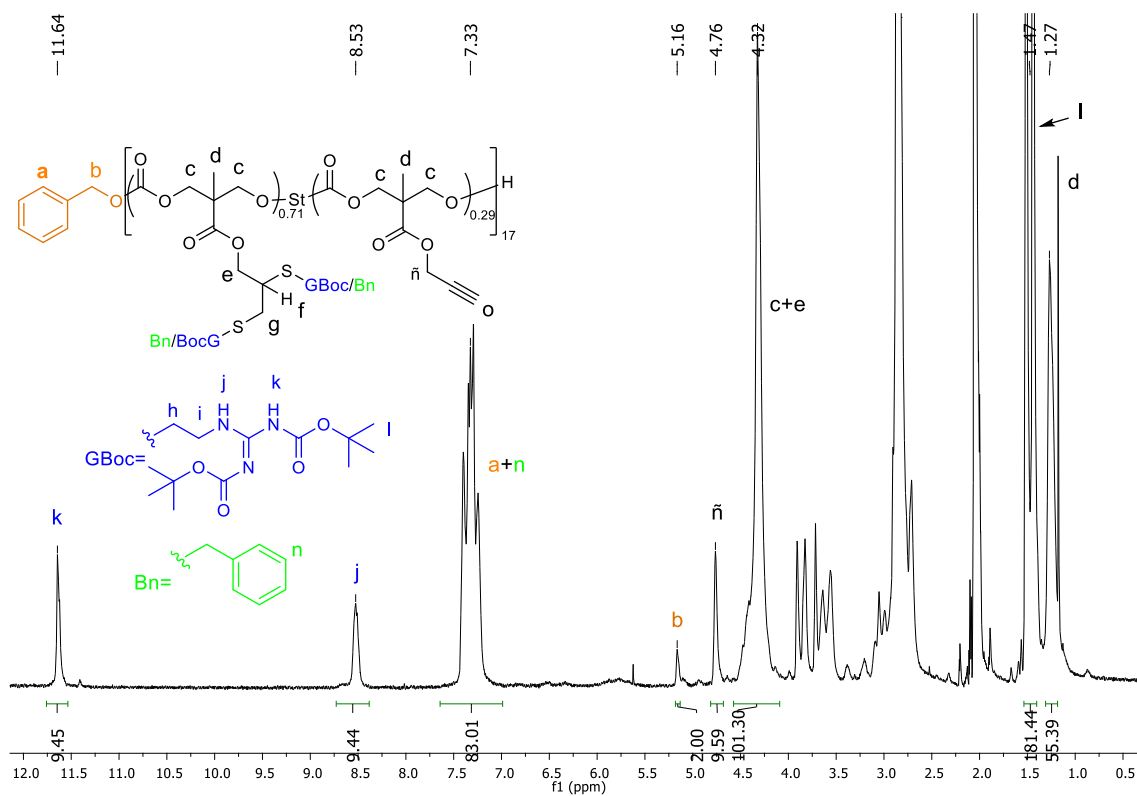


Figura A24: Espectro  $^1\text{H}$ -RMN (400 MHz,  $\text{CD}_3\text{COCD}_3$ )  $\delta$  (ppm)

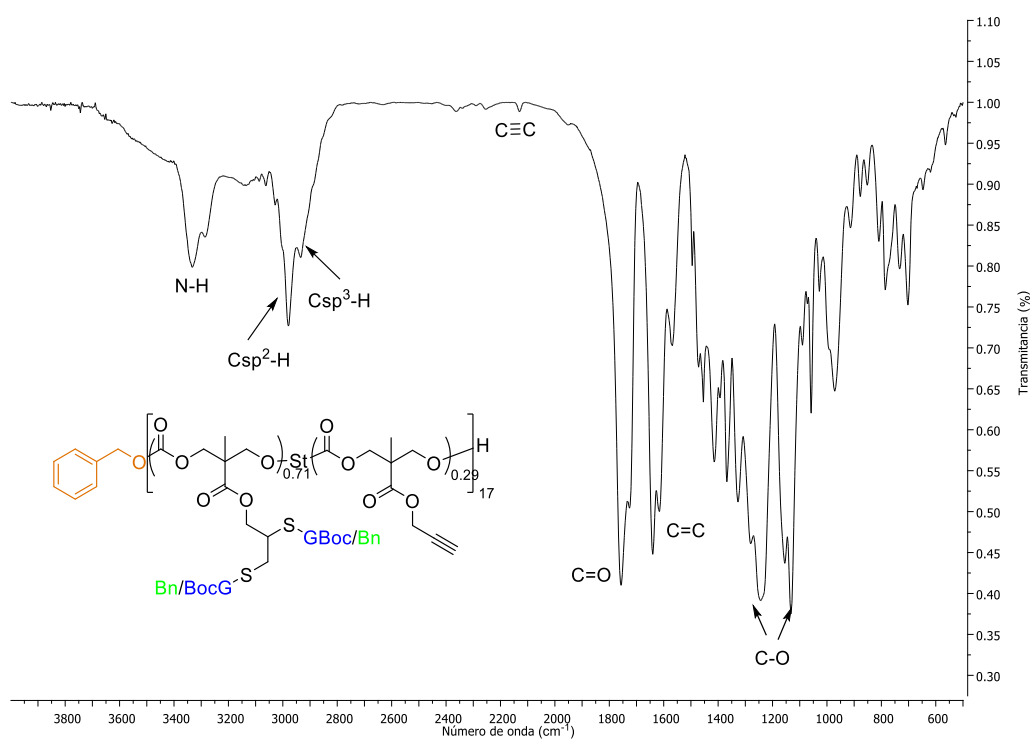


Figura A25: Espectro FTIR (KBr)  $\nu$ :  $\text{cm}^{-1}$

## 11. Síntesis y caracterización de P(MPC)-G<sub>0.5</sub>-st-Bn<sub>0.5</sub>

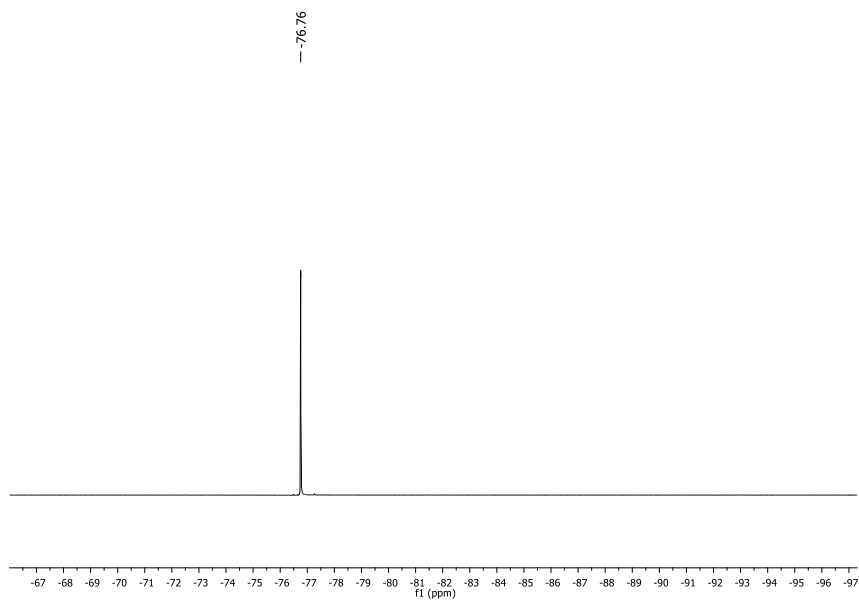


Figura A26: Espectro <sup>19</sup>F-RMN (376.5 MHz, CD<sub>3</sub>OD)  $\delta$  (ppm)

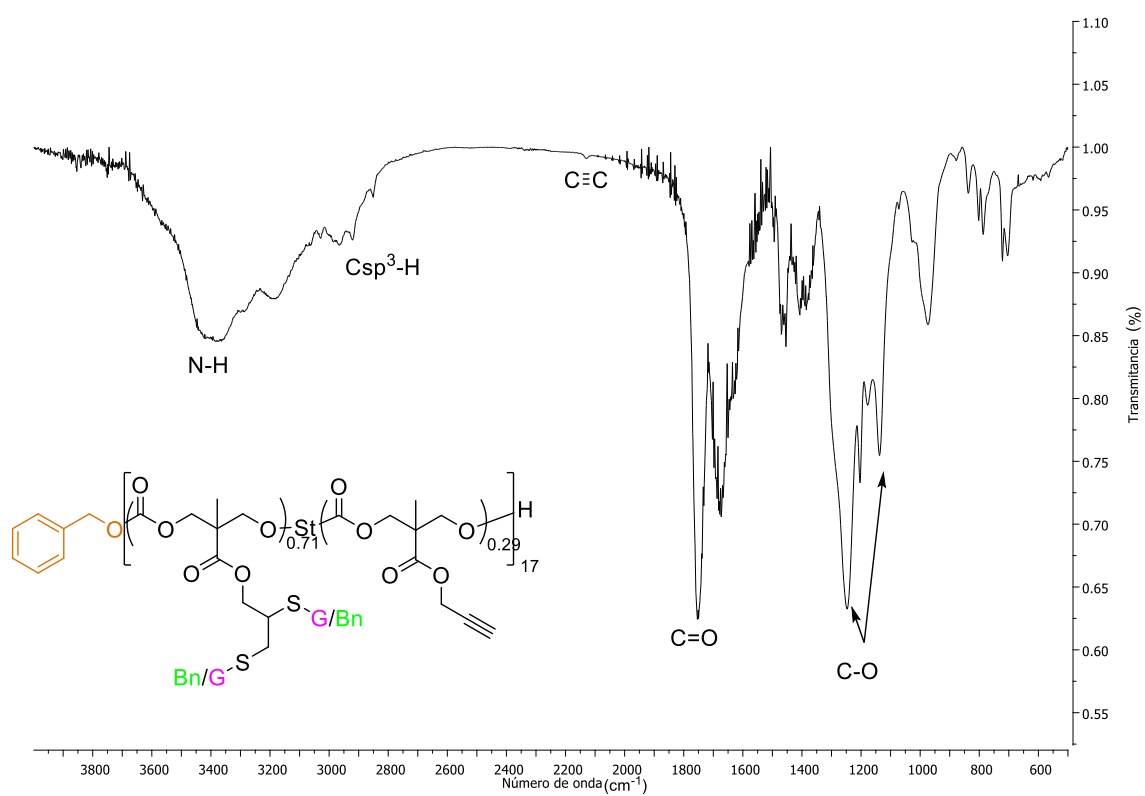


Figura A27: Espectro FTIR (KBr)  $\nu$ :  $\text{cm}^{-1}$

## ANEXO B: Curvas de GPC

### 1. P(MPC)

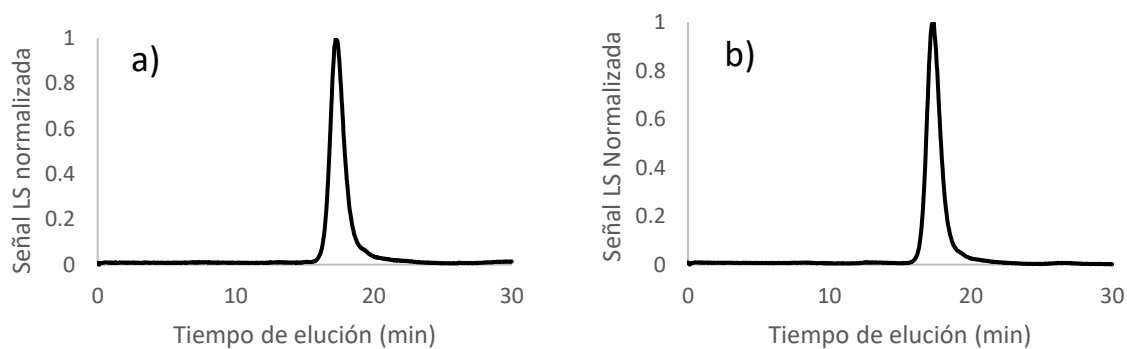


Figura B1: Cromatograma de GPC de a)  $P(MPC)_{19}$  y b)  $P(MPC)_{17}$

### 2. P(MPC)-GBoc

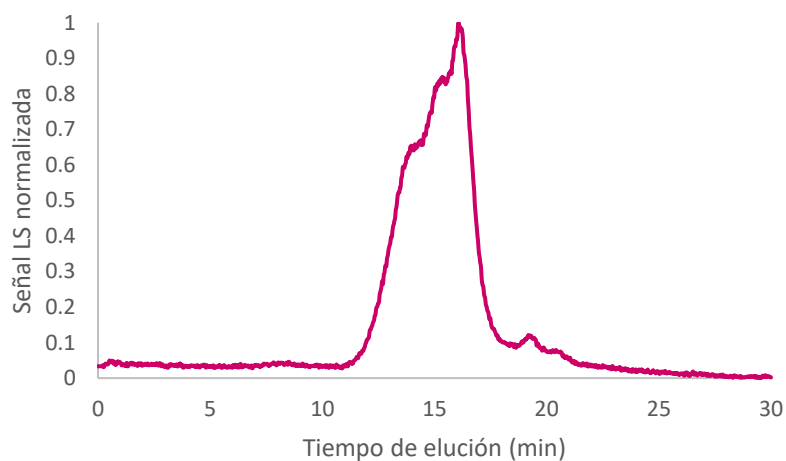


Figura B2: Cromatograma de GPC de  $P(MPC)-GBoc$

### 3. P(MPC)-GBoc<sub>0.75</sub>-st-Bn<sub>0.25</sub>

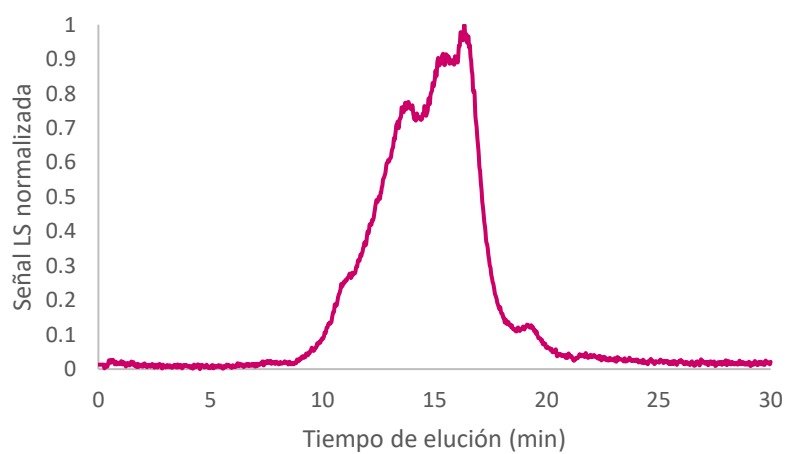


Figura B3: Cromatograma de GPC de  $P(MPC)-GBoc_{0.75}-st-Bn_{0.25}$

#### 4. P(MPC)-GBoc<sub>0.5</sub>-st-Bn<sub>0.5</sub>

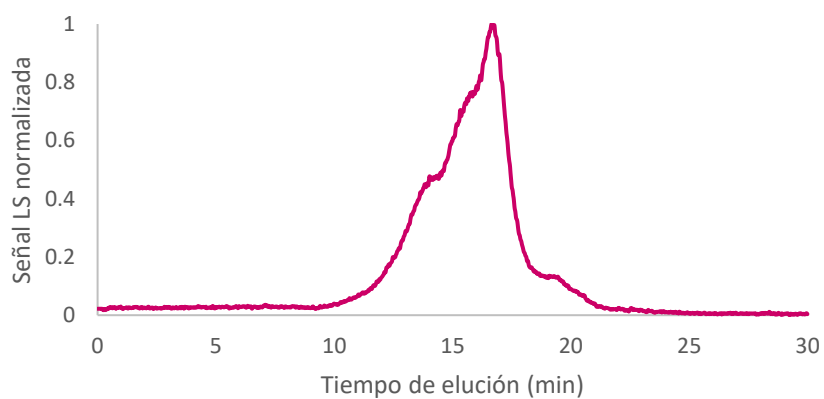


Figura B4: Cromatograma de GPC de P(MPC)-GBoc<sub>0.5</sub>-st-Bn<sub>0.5</sub>

#### 5. Comparación entre GPC de las diferentes funcionalizaciones

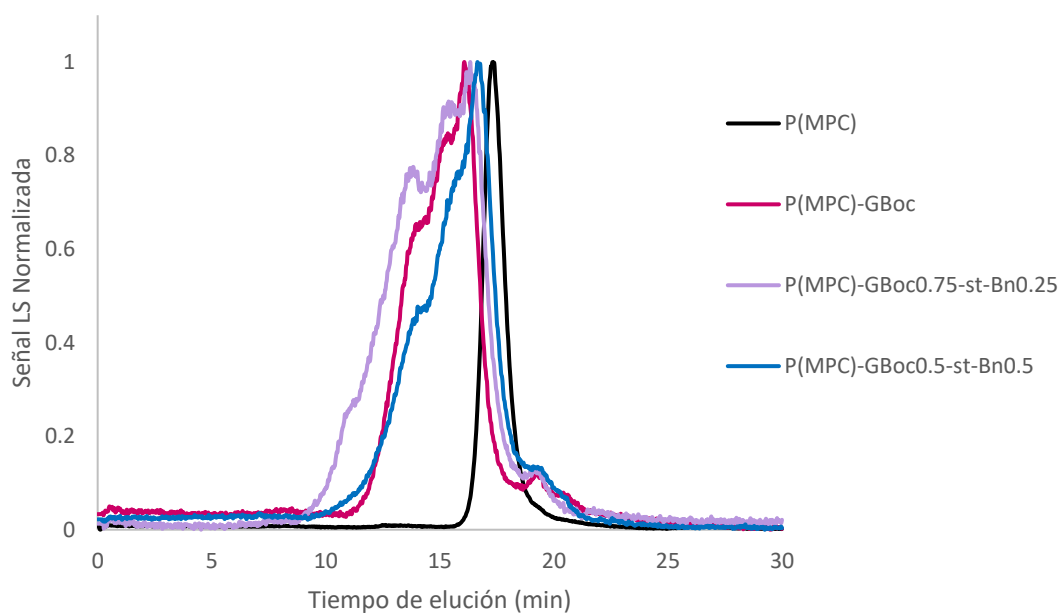
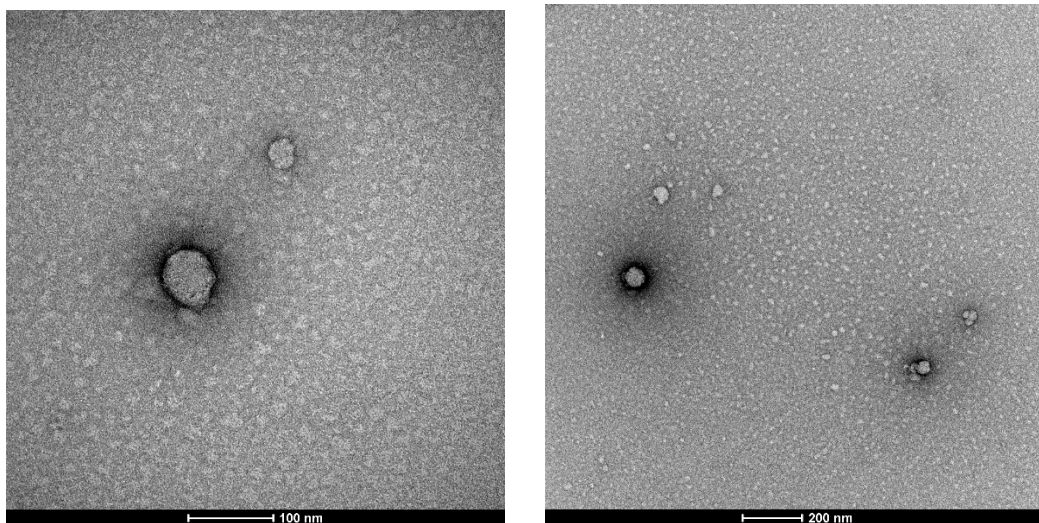


Figura B5: Cromatograma GPC incluyendo todas las funcionalizaciones

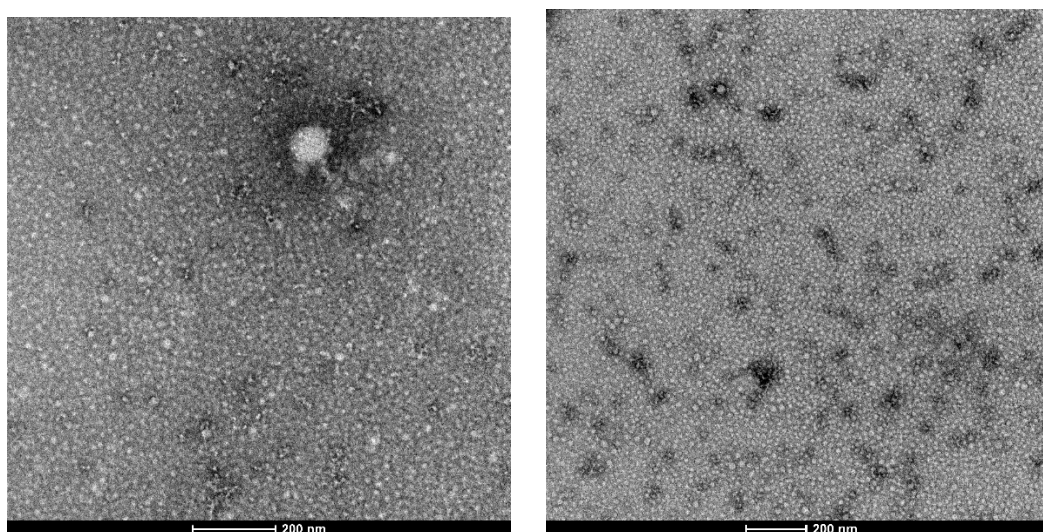
## ANEXO C: TEM

### 1. P(MPC)-G



*Figura C1: Imágenes TEM de P(MPC)-G*

### 2. P(MPC)-G<sub>0.75</sub>-st-Bn<sub>0.25</sub>



*Figura C2: Imágenes TEM de P(MPC)-G<sub>0.75</sub>-st-Bn<sub>0.25</sub>*

## ANEXO D: TÉCNICAS Y EQUIPOS EMPLEADOS

### - Espectroscopía de resonancia magnética nuclear de protón, flúor y carbono ( $^1\text{H}$ -RMN, $^{19}\text{F}$ -RMN, $^{13}\text{C}$ -RMN)

Todos los espectros mostrados se registraron a temperatura ambiente en un equipo Bruker AV-400, que opera a 400MHz para  $^1\text{H}$ , 376.5MHz para  $^{19}\text{F}$  y a 100 MHz para  $^{13}\text{C}$ . Se han usado como disolventes  $\text{CDCl}_3$ , Acetona- $\text{D}_6$  y Metanol- $\text{D}_4$ .

### -Espectroscopía infrarroja de transformada de Fourier (FTIR)

Se prepararon todas las muestras en pastillas de KBr (1 %wt) y se midieron en el equipo Bruker Vertex 70.

### -Espectrometría de MS

Se realizó empleando equipos Bruker Microflex y las técnicas MALDI-TOF y ESI, usando como disolvente DCM.

### -Cromatografía de permeación en gel (GPC)

Se llevó a cabo usando un equipo HPLC Walters Alliance 2695, equipado con un detector evaporativo de dispersión de luz (ELS) Walters 2424 y columnas Waters Stryagel<sup>®</sup> (7.8 x 300mm) HR2 y HR4, empleando THF como eluyente con un flujo de 1.0 mL/min. La calibración del equipo se realizó con patrones de poli(metacrilato de metilo). Las muestras fueron preparadas disolviendo 2 mg del polímero en 2 mL de THF (HPLC).

### -Dispersión dinámica de la luz (DLS)

Las mediciones se realizaron empleando el equipo Malvern Instrument Nano ZS usando un láser He-Ne con una longitud de onda de 633 nm, con cubetas de poliestireno desechables. La preparación de la muestra se realizó diluyendo con agua mili-Q hasta 0.1 mg/mL.

### -Microscopía Electrónica de Transmisión (TEM)

Los estudios de TEM se realizaron en el Servicio de Microscopía Electrónica de Materiales de la Universidad de Zaragoza, empleando un microscopio electrónico de transmisión de alta resolución Fei Tecnai T20 trabajando a 200kV. La preparación de la muestra se llevó a cabo depositando 10  $\mu\text{L}$  de la disolución de 1mg/mL de muestra sobre una rejilla de cobre con película de carbono, y tras 30s, se elimina el exceso de muestra no depositada por capilaridad con ayuda de papel de filtro. Seguidamente se tiñó la muestra con 10  $\mu\text{L}$  de acetato de uranilo, y tras 30s se elimina el exceso de manera análoga. Finalmente se dejan secar las rejillas a vacío y se lleva a cabo la medición. La manipulación del acetato de uranilo se realiza en el Centro de Investigación Biomédica de Aragón (CIBA), evitando así los residuos radioactivos.