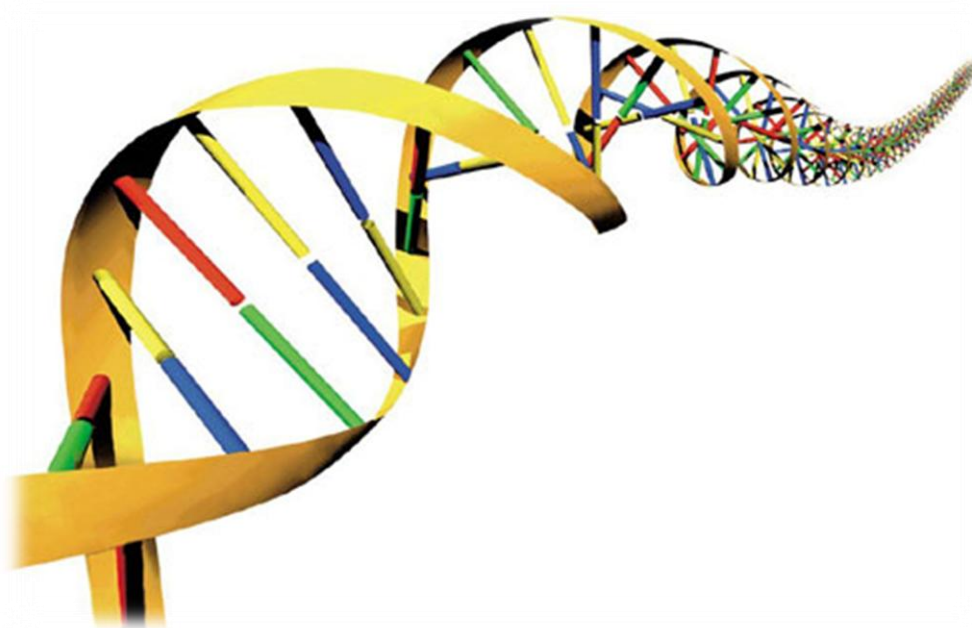




Universidad de Sevilla  
Facultad de Farmacia



# Nuevos politriazoles protonables para terapia génica

*María Ramírez Espinosa*



Universidad de Sevilla  
Facultad de Farmacia  
Departamento de Química Orgánica y Farmacéutica

**Trabajo Fin de Grado**  
**Grado en Farmacia**  
**Nuevos politriazoles protonables para**  
**terapia génica**

**Alumno:** María Ramírez Espinosa

**Tutoras:** M<sup>a</sup> de Gracia García Martín y Elena M<sup>a</sup> Benito Hernández

**Trabajo de carácter experimental**

**Sevilla, julio de 2018**

# Índice

<b>1. RESUMEN.....</b>	<b>4</b>
<b>2. INTRODUCCIÓN Y ANTECEDENTES.....</b>	<b>5</b>
<b>3. OBJETIVOS.....</b>	<b>12</b>
<b>4. METODOLOGÍA Y PARTE EXPERIMENTAL.....</b>	<b>13</b>
<b>4.1.1 Métodos generales.....</b>	<b>13</b>
<b>4.1.2 Síntesis de monómeros.....</b>	<b>15</b>
<b>4.1.3 Síntesis de politriazoles.....</b>	<b>18</b>
<b>5. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....</b>	<b>24</b>
<b>5.1.1 Síntesis y caracterización de monómeros.....</b>	<b>24</b>
<b>5.1.2 Síntesis y caracterización de politriazoles.....</b>	<b>26</b>
<b>6. CONCLUSIONES.....</b>	<b>31</b>
<b>7. BIBLIOGRAFÍA.....</b>	<b>32</b>
<b>8. ANEXO: ABREVIATURAS Y ACRÓNIMOS.....</b>	<b>37</b>

## 1. RESUMEN

La terapia génica consiste en utilizar genes para tratar o prevenir enfermedades. En la actualidad es quizás junto a la inmunoterapia una de las estrategias más prometedoras en lo que se refiere al tratamiento del cáncer.

Los primeros transportadores de material genético que se ensayaron eran virus atenuados y se denominaron *vectores víricos* pero presentaron altos niveles de toxicidad. Por esta razón se recurrió a *vectores no víricos* y las primeras experiencias se llevaron a cabo con las polietileniminas (PEIs), que aunque presentaban menor toxicidad causaron reacciones inmunológicas. Posteriormente las investigaciones se han encaminado al desarrollo de materiales biocompatibles y biodegradables, entre los cuales se está prestando especial atención a los polímeros derivados de carbohidratos, debido a sus inherentes propiedades de biocompatibilidad y degradabilidad hidrolítica y enzimática.

Este Trabajo Fin de Grado se centra en la preparación de politriazoles catiónicos derivados de los monosacáridos L-arabinitol y D-manitol. Se describe la síntesis y caracterización estructural de los monómeros, así como de los polímeros precursores y de los catiónicos conteniendo grupos amino protonables. Además los anillos de triazol también son susceptibles de protonación.

En primer lugar, se sintetizaron los monómeros adecuadamente funcionalizados, como son los dialquil derivados y los diazido derivados, para posteriormente llevar a cabo las reacciones de cicloadición 1,3-dipolar catalizada por Cu (I), una de las denominadas *reacciones click*, condecentes a los politriazoles. La generación de los grupos amino protonables se llevó a cabo mediante una metodología anteriormente desarrollada en el grupo de investigación Carbohidratos y Polímeros, grupo donde se ha desarrollado este trabajo. Los politriazoles catiónicos pueden formar poliplejos mediante interacciones electrostáticas con los grupos fosfato del ADN, que podrían actuar como vectores eficaces en el transporte celular y en el proceso de transfección genética.

**Palabras clave:** Politriazoles, terapia génica, polímeros biocompatibles, polímeros biodegradables, química click.

## 2. INTRODUCCIÓN Y ANTECEDENTES

El concepto de terapia génica se introdujo en 1963 como estrategia terapéutica, y desde entonces se han estudiado diversos materiales para combatir desórdenes tanto hereditarios como adquiridos. Este tipo de terapia, donde los ácidos nucleicos son los agentes terapéuticos, supone una alternativa a la quimioterapia clásica, ya que permite sustituir o silenciar un gen que se esté expresando de manera disfuncional (Xu y Yang, 2011). Por ejemplo, en los casos hereditarios el procedimiento consistiría en introducir una copia normal del gen afectado restaurando el correcto funcionamiento celular. En cambio, en las enfermedades adquiridas como el cáncer, el método consistiría en, además de introducir una copia normal, añadir la supresión de la capacidad de sobreexpresión de los genes afectados en células, siendo esta acción anormal la causante de la enfermedad.

La primera vez que se aplicó este tipo de terapia fue en 1989, cuando se transfirió un gen resistente a los linfocitos con inmunodeficiencia combinada severa (ICS) (Blaese y cols., 1995). Se comprobó que el gen se había incorporado y los niveles de células sanguíneas se habían normalizados. A partir de entonces, se aprobó el uso de la terapia génica en el tratamiento de otras enfermedades, como en el tratamiento de  $\beta$ -talasemia en pacientes que no podían acceder a un trasplante de médula compatible (Cavazzana-Calvo y cols., 2000 y 2010; Sheridan, 2011). Los trastornos adquiridos y genéticos como la fibrosis quística, la esclerosis múltiple, el cáncer, la hemofilia o enfermedades cardiovasculares entre otras, poseen características ideales para ser tratados mediante este tipo de terapia (Xu y Yang, 2011).

Sin embargo, la nueva terapia no estaba exenta de efectos secundarios graves, constatándose la muerte de algunos voluntarios, así como la aparición de leucemia en los pacientes tratados contra la ICS (Hacein-Bey-Abina y cols., 2008). Estos efectos se vincularon a la toxicidad producida por los vectores empleados para el transporte y transfección del material génico en estos ensayos (Branca, 2005).

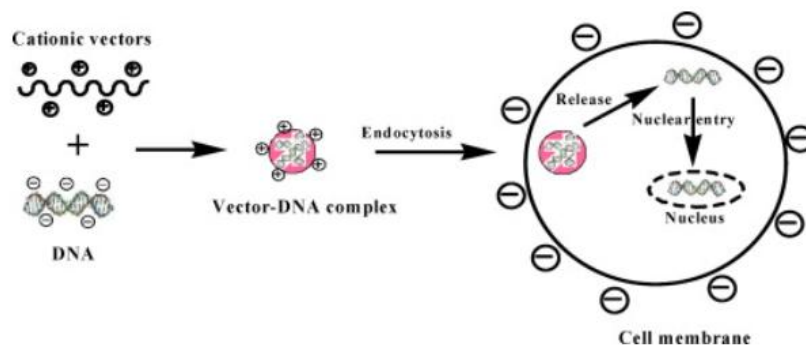
Durante los ensayos clínicos se descubrieron riesgos importantes a tener en cuenta, limitando la aplicación de estas terapias (Nayak y Herzog, 2010). Por ejemplo, los vectores víricos son potencialmente capaces de recombinarse con otros virus susceptibles de replicación pudiendo inducir respuestas inmunogénicas e inflamatorias, y en ocasiones producir inserciones no deseadas en el genoma del hospedador (Nayak y Herzog, 2010; Rosenberg y Schechter, 2000; Gansbacher, 2003).

Para conseguir el éxito con estas nuevas terapias, es necesario actuar intracelularmente, de manera que el tamaño de los agentes transportadores es determinante para penetrar en las

células. De hecho, se ha demostrado que las partículas grandes quedan retenidas en el hígado y el bazo antes de llegar a la diana terapéutica, mientras que las partículas con tamaño inferior a 20 nm son eliminadas fácilmente (Zhang y cols., 2013). Otra de las características importantes que deben presentar los transportadores es la capacidad para controlar la liberación de los agentes terapéuticos, lo que incrementaría la eficacia en la actividad terapéutica buscada.

El espectacular desarrollo experimentado por la química de polímeros ha permitido acceder a sistemas biodegradables y biocompatibles que responden a estímulos (pH, temperatura, ambientes hipóxicos) y que pueden ser utilizados como sistemas de liberación controlada, actuando sobre dianas terapéuticas específicas.

En un principio, los agentes transportadores (vectores) empleados eran virus atenuados, pero estos producían una elevada mutagenicidad e inmunogenicidad, de manera que se trabajó en el desarrollo de sistemas de transporte de genes no víricos como polímeros catiónicos. Estos polímeros fueron capaces de formar complejos con ADN y liberarlo en el interior de las células fácilmente, presentando una alta capacidad de expresión génica (Figura 1). Los primeros polímeros catiónicos empleados como vectores fueron polietiléniminas y poli-L-lisina pero no eran biodegradables (Boussif y cols., 1995; Asayama y cols., 1997) y provocaron reacciones inmunes e interacciones no específicas con células y proteínas, resultando ser aún más tóxicas que los vectores víricos, tanto *in vitro* como *in vivo*. A causa de estos inconvenientes, las investigaciones se dirigieron hacia la producción de vectores como los polisacáridos naturales que aunque no fueron tóxicos presentaron una baja expresión genética (Mintzer y cols., 2009).

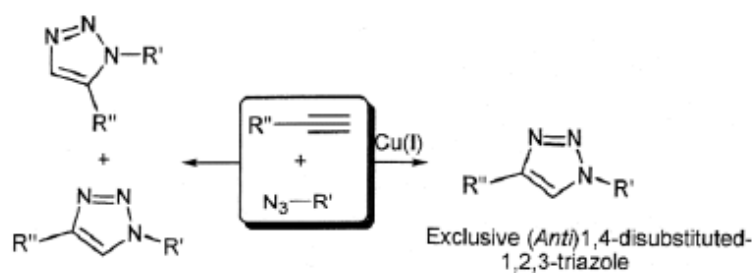


**Figura 1.** Mecanismo basados en vectores catiónicos con capacidad de expresión génica (Xu y Yang, 2011).

Las reacciones de tipo *click* engloban una serie de reacciones que se caracterizan por una metodología sencilla, transcurren en condiciones suaves, presentan elevados rendimientos y transcurren con regio y estereoselectividad (Such y cols., 2012). Este concepto de química *click* fue introducido en 2001 por Sharpless y trata de imitar la obtención natural de biomoléculas mediante la unión de pequeñas unidades a través de enlaces carbono-heteroátomo (Kolb y cols., 2001).

La aportación de las reacciones *click* a los nuevos métodos de síntesis (Kihara y cols., 2017) ha supuesto un importante avance en el desarrollo de los materiales sintéticos para aplicaciones especiales, especialmente en el campo de la biomedicina. Este tipo de reacciones ha permitido obtener materiales poliméricos estructuralmente muy variados y que son capaces de responder a estímulos, por ejemplo, cambios de pH, por lo que se les denomina *materiales inteligentes*.

Una de las reacciones *click* más estudiadas es la cicloadición azida-alquino catalizada por Cu(I) para la obtención de 1,2,3- triazoles (Figura 2).



**Figura 2.** Cicloadición 1,3-dipolar de diazidas y alquinos (Himo y cols., 2005).

Las cicloadiciones azida-alquino catalizadas por cobre han contribuido a la síntesis de una variedad de polímeros nanoestructurados sofisticados como dendrímeros, hiperramificados, polímeros de injerto, tipo peine y estrella (Huo y cols., 2017). Las aplicaciones de estos materiales abarcan procesos relacionados con autorreparación adhesivos, dispositivos optoelectrónicos, transportadores de fármacos y diagnóstico por imagen (Hugo y cols., 2017).

El control de la relación estequiométrica de monómeros alquino/azida es un factor muy importante en la obtención de materiales funcionales basados en politriazoles para aplicaciones como agentes de transfección génica (Shi y cols., 2016).

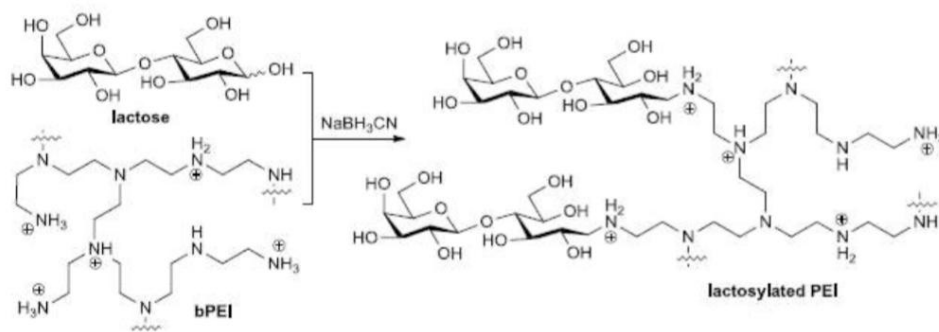
Este tipo de reacciones también puede ser utilizada para la obtención de politriazoles derivados de carbohidratos, de manera que los polímeros así obtenidos sean biodegradables y biocompatibles, limitando así los efectos tóxicos. Además la introducción de grupos disulfuro en las cadenas poliméricas favorecerá su reducción en ambientes hipóxicos (como los que se

encuentran en tumores sólidos) y facilitará la liberación de ADN, favoreciendo la eficacia de la transfección (Ahmed y Narain, 2013).

Sin embargo, aspectos como la heterogeneidad y polidispersidad que presentan los polímeros, al contrario a otros sistemas definidos estructuralmente como las ciclodextrinas (Ortiz y cols., 2011) hicieron que durante cierto tiempo dejaran de tener interés como vectores no virales (He y Wagner, 2015).

Los materiales sintéticos biocompatibles y biodegradables desarrollados en las últimas décadas, han encontrado aplicaciones en áreas como la biomedicina, la ingeniería de tejidos, el diseño de nuevos dispositivos médicos, la liberación controlada, o la terapia génica, entre otros. Los carbohidratos han contribuido en gran medida al desarrollo de este tipo de materiales

El primer derivado de carbohidrato utilizado como vector no vírico fue una poli-L-lisina conteniendo galactosa a los receptores asialoglicoproteína incluidos en la membrana celular de los hepatocitos (Wu y Wu, 1987; Wu y Wu, 1988). Tanto galactosa como manosa han sido estudiadas como glicoligandos debido a la selectividad que presentan por las células de los sistemas hepático e inmune. La introducción interna de un PEI galactosilado por hepatocitos (Figura 3) no es suficiente para alcanzar la especificidad ya que existen otros mecanismos paralelos. Los glicoconjugados pueden ser reconocidos específicamente por los receptores de las membranas celulares y otros receptores intracelulares, cuya expresión depende también del estado en desarrollo de la célula (Bies y cols., 2004; Zhang y cols., 2010).

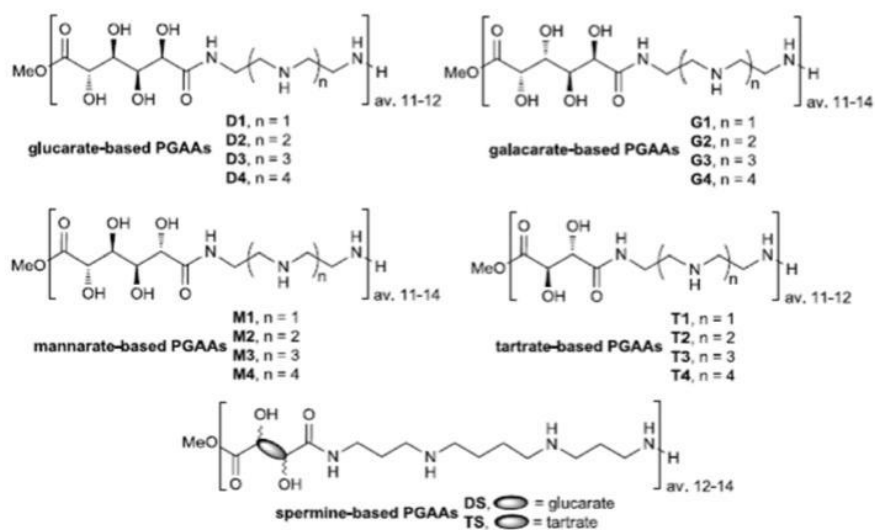


**Figura 3.** Síntesis de PEI lactosilado.

El polisacárido más estudiado como vector no vírico es el quitosano. También se han estudiado otros derivados de carbohidratos como transportadores de material genético Reineke y Guan (Liu y cols., 2004; Metzke y cols., 2005), prepararon de manera independiente una variedad de poliglicoamidoaminas (PGAAs) imitando la estructura lineal de las

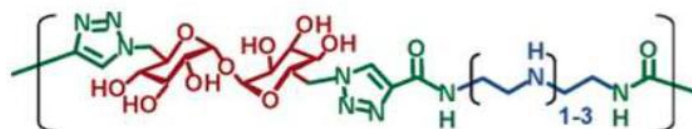


polietileniminas (PEI) (Figura 4) y de la poli-L-lisina (PLL). Estas PGAAs se estudiaron frente a diversas líneas celulares y presentaron unos niveles de expresión génica comparables a los obtenidos con las PEIs, pero con perfiles de toxicidad mucho más moderados.



**Figura 4.** Poliglicoamidoaminas (PGAAs) del tipo PEI.

Srinivasachari y colaboradores (2006) presentaron una serie de glicopolímeros derivados de trehalosa conteniendo muchos grupos amino protonables en las cadenas, lo que les permitió interactuar con ADN y formar complejos con plásmidos (Figura 5).



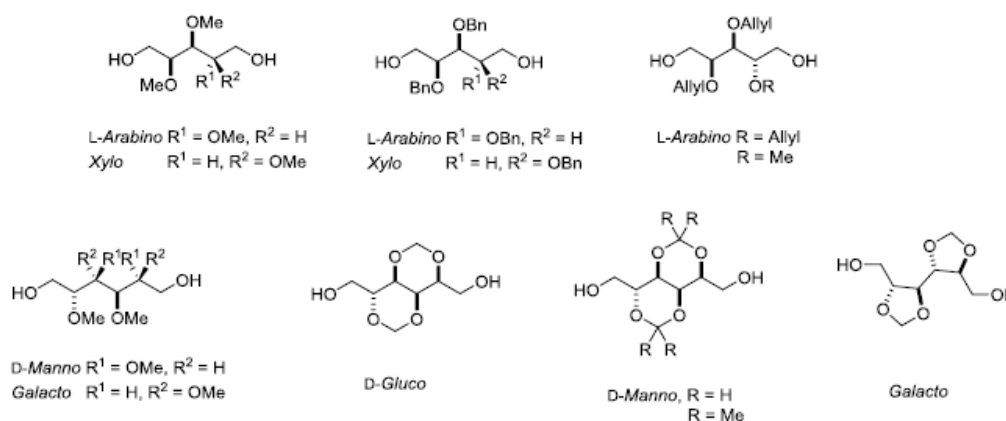
**Figura 5.** Politrizoles derivados de trehalosa (Srinivassachari y cols., 2006).

La reacción click se ha utilizado para sintetizar polímeros catiónicos lineales degradables por reducción de puentes disulfuro a través de la reacción de diazidas y dialquino-oligoaminas.

Estos forman poliplejos con los plásmidos de ADN dado el tamaño de partícula y las cargas debido a la densidad de los grupos aminos. A mayor densidad de los grupos aminos en las cadenas, normalmente hay mejor enlace al ADN, y mayor capacidad de condensación, obteniéndose poliplejos de tamaño menor y más cargas superficiales. Se comprobó también que cuanto menor era el tamaño de las partículas, más estables resultaban durante la incubación (Wang y cols., 2011).

Los carbohidratos se encuentran ampliamente distribuidos en la naturaleza y han supuesto una importante fuente de materias primas renovables para el desarrollo de materiales

poliméricos biocompatibles y biodegradables (Galbis y García-Martín, 2008; Gandini, 2008). Debido a la multifuncionalidad que presentan los monosacáridos, es necesario hacer uso de grupos protectores de determinados grupos funcionales para poder utilizarlos como monómeros en las reacciones de polimerización. El grupo de investigación Carbohidratos y Polímeros del Departamento Química Orgánica y Farmacéutica de la Universidad de Sevilla, grupo en el que se ha desarrollado este TFG, ha sintetizado una variedad de monómeros como ácidos aldéricos, diaminas y alditoles a partir de monosacáridos asequibles como los ácidos D- y L-tartárico, D- y L-arabinosa, D-xilosa, D-glucosa, D-glucitol, D-manitol y D-galactitol (Galbis y cols., 2016). La Figura 6 muestra una selección de alditoles frecuentemente utilizados en reacciones de policondensación y que también se pueden transformar en las correspondientes diaminas (Galbis y cols., 2016).



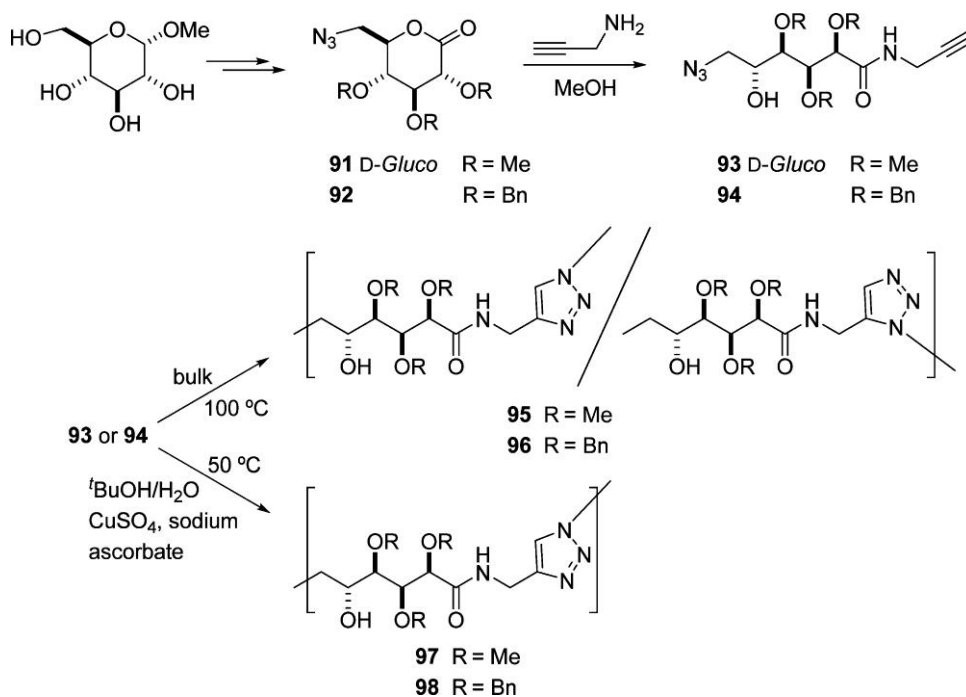
**Figura 6.** Alditoles frecuentemente utilizados como monómeros en reacciones de policondensación.

Los polímeros basados en monosacáridos más ampliamente estudiados han sido los polímeros de condensación como poliamidas, poliésteres, poli(éster amidas), policarbonatos y poliuretanos (Galbis y García-Martín, 2010). Para muchos de ellos se ha demostrado su utilidad como sistemas de liberación controlada de fármacos (Campiñez y cols., 2017) así como su degradabilidad tanto hidrolítica como enzimática (Galbis y cols., 2016).

A partir de estos alditoles se han llevado a cabo modificaciones del PET (polietilentereftalato) y del PBT (polibutilentereftalato) sustituyendo el etilenglicol y el butilenglicol por unidades de alditol en diversas proporciones. El ácido ftálico ha sido reemplazado por unidades de ácidos aldéricos de estructura bicíclica (D-gluco y D-galacto) (Galbis y cols., 2016). Los polímeros modificados con unidades de azúcar, presentaron buenas propiedades físicas y mecánicas, siendo además degradables hidrolítica y enzimáticamente.

Se ha demostrado que la hidrofiliía aportada por las unidades de azúcar en las cadenas poliméricas es crucial para los procesos de degradación. Así los derivados de alditoles que contenían mayor número de grupos metoxilo polares se degradaron más rápidamente.

En este grupo de investigación también se han obtenido politriazoles a partir de monosacáridos convenientemente funcionalizados con grupos azida y alquino, Figura 7 (Hakkou y cols., 2015).



**Figura 7.** Esquema de reacción poliadiición azida y alquino (Molina y cols., 2014).

El trabajo desarrollado en este TFG se desarrolla dentro de esta línea de investigación del grupo Carbohidratos y Polímeros, y se centra fundamentalmente en la síntesis de politriazoles catiónicos, como se especifica en los objetivos.

### 3. OBJETIVOS

El objetivo general de este Trabajo Fin de Grado es la síntesis de politriazoles catiónicos de naturaleza biocompatible y biodegradable que puedan ser empleados como vectores en terapia génica.

Concretamente los objetivos planteados para este trabajo son:

1. Síntesis de monómeros bifuncionales que puedan ser empleados en reacciones de polimerización y que presenten las siguientes propiedades:

- Biocompatibilidad y biodegradabilidad. Para conseguir que los polímeros finales que sean biocompatibles y biodegradables los monómeros de partida deben tener una constitución adecuada, para lo cual se emplearán derivados de carbohidratos. Los monómeros que aportan grupos disulfuro favorecerán la degradación en medios hipóxicos.

- Estos monómeros deben tener grupos funcionales reactivos adecuados para que ocurran las reacciones de polimerización. En este caso se han seleccionado los grupos azida y alquino terminales, que darán lugar a reacciones de cicloadición 1,3-dipolares típicas de la química *click*.

- Para conseguir que los polímeros formen poliplejos con ADN, éstos deberán ser policatiónicos. Por eso los monómeros empleados deben presentar grupos susceptibles de ser funcionalizados con grupos que se puedan protonar a un pH adecuado (como los grupos amino). Los anillos de triazol también son protonables.

2. Síntesis de politriazoles:

Se llevará a cabo mediante reacciones de cicloadición 1,3-dipolar azido-alquino catalizadas por cobre (I). Los anillos de triazol formados en estas reacciones formarán parte del esqueleto de las cadenas poliméricas.

En la caracterización estructural de los monómeros y polímeros se emplearán las técnicas espectroscópicas habituales como son IR y RMN, y los tamaños moleculares se determinarán mediante GPC. Las propiedades térmicas de los nuevos polímeros se estudiarán mediante DSC y TGA.

## 4. MÉTODOLÓGÍA Y PARTE EXPERIMENTAL

### 4.1.1. Métodos generales

Los reactivos comerciales utilizados se adquirieron en Sigma-Aldrich, Fluka, Merck y Panreac, se utilizaron sin purificación previa y se refrigeraron a 4 °C y mantuvieron bajo atmósfera inerte de argón cuando resultó preciso. Los disolventes se secaron y purificaron, cuando fue necesario, siguiendo los métodos estándares. Las reacciones en atmósfera inerte se llevaron a cabo bajo atmósfera de argón. La determinación de los puntos de fusión se llevó a cabo en un aparato de la casa Electrothermal®, en tubos capilares abiertos y están sin corregir. Los disolventes se evaporaron a presión reducida (0,1 - 20 mmHg) y a temperaturas inferiores a 40 °C con la ayuda de un rotavapor. Los análisis elementales cuantitativos se determinaron en los laboratorios de microanálisis del servicio CITIUS, en la Universidad de Sevilla.

El seguimiento cualitativo de las reacciones se llevó a cabo por la **cromatografía en capa fina** (c.c.f.). Se usaron cromatoplasas Merck de Silicagel 60 F<sub>254</sub> sobre aluminio de aproximadamente 0,2 mm de espesor, eluyendo cada vez con los disolventes apropiados, y comprobando la existencia de compuestos que presentan absorción de luz UV mediante la exposición de las placas a una luz de  $\lambda_{\text{max}} = 254$  nm. A continuación se revelaron por inmersión en una disolución de ácido fosfomolibdico en etanol al 3%, calentando la placa posteriormente.

Los productos resultantes de las distintas reacciones se purificaron y separaron usando **columnas cromatográficas** mediante la técnica "flash chromatography". Como fase estacionaria se empleó Silicagel 60 de la marca Merck, con un tamaño de partícula de 230-400 mesh ASTM. Los eluyentes utilizados se indican en cada caso.

Los **espectros de absorción en el infrarrojo** se llevaron a cabo en un espectrofotómetro JASCO FT/IR-4200 equipado con ATR (reflexión total atenuada).

Los **espectros de Resonancia Magnética Nuclear de protones** (<sup>1</sup>H-RMN) se realizaron en espectrofotómetros Bruker AMX-300 (300,1 MHz) y AV-500 (500,13 MHz), disolviendo las muestras en deuteriocloroformo o dimetilsulfóxido deuterado. Los valores de los desplazamientos químicos ( $\delta$ ) se expresaron en ppm referidos al tetrametilsilano (SiMe<sub>4</sub>), y los

valores de las constantes de acoplamiento ( $J$ ) se refirieron en Hertzios (Hz). La multiplicidad de las señales se indica mediante las abreviaturas: s (singulete), d (doblete), dd (doble doblete), t (triplete), m (multiplete).

Para el registro de los espectros de **Resonancia Magnética Nuclear de Carbono-13** se emplearon los mismos equipos nombrados anteriormente a 75 MHz o 125 MHz, respectivamente. La calibración se realizó usando las señales de los disolventes como referencias internas. Se realizaron experimentos DEPT-135 (Distorsionless Enhancement by Polarization Transfer) para facilitar la interpretación de las señales. En ellos, los carbonos primarios y terciarios aparecen como señales con fase positiva, los secundarios como señales con fase negativa y los carbonos cuaternarios no aparecen. También se llevaron a cabo experimentos de correlación homonuclear (COSY  $^1\text{H}$ - $^1\text{H}$ ) y de correlación heteronuclear (HETCOR  $^1\text{H}$ - $^{13}\text{C}$ ).

Las **cromatografías de permeación en gel** (GPC) se realizaron en un cromatógrafo Waters 1515 utilizando un detector de índice de refracción Waters 2414 y equipado con dos columnas StyragelR HR (7,8 x 300 mm) dispuestas en serie, termostatzado a 60 °C y usando *N,N*-dimetilformamida (DMF) con bromuro de litio, grado HPLC, como fase móvil. El flujo empleado fue de 1 mL min<sup>-1</sup> y la concentración de los estándares y las muestras fue del 0,1% p/v. Los pesos moleculares fueron estimados usando patrones de poliestireno.

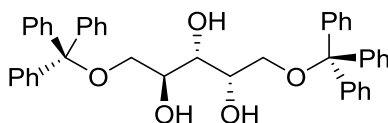
#### **Calorimetría diferencial de Barrido**

Los termogramas de Calorimetría Diferencial de Barrido (DSC) se adquirieron en un calorímetro DSC Q200 (TA Instruments) calibrado con indio. La cantidad de muestra empleada fue de 4 a 6 mg. La velocidad del primer calentamiento/enfriamiento fue de 10 °C min<sup>-1</sup> bajo un flujo de nitrógeno de 50 mL min<sup>-1</sup>. Las temperaturas de transición vítrea ( $T_g$ ) se determinaron a una velocidad de calentamiento de 20 °C min<sup>-1</sup> después de someter las muestras a un enfriamiento rápido.

Los **análisis termogravimétricos** (TGA) se realizaron con una termobalanza SDT Q600 (TA Instruments) bajo atmósfera de nitrógeno (flujo de 100 mL min<sup>-1</sup>) a una velocidad de calentamiento de 10 °C min<sup>-1</sup>.

#### 4.1.2. Síntesis de monómeros.

##### 1,5-Di-O-tritil-L-arabinitol (**2**)

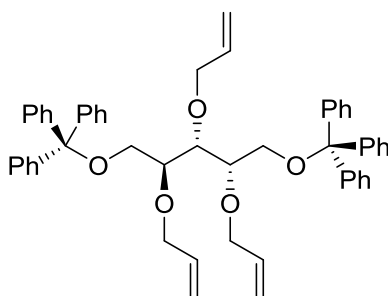


A una disolución de L-arabinitol (**1**) (3 g; 4,72 mmol) en piridina (110 mL) se le añadió cloruro de trifenilmetilo ( $\text{Ph}_3\text{CCl}$ ) (11 g; 39,45 mmol) y se agitó a temperatura ambiente durante 15 días al abrigo de la luz. Transcurrido el tiempo, se eliminó el disolvente destilando a presión reducida y el residuo obtenido se lavó con una mezcla de agua-diclorometano 1:1 (1 L). La fase orgánica se lavó consecutivamente con una disolución de ácido clorhídrico 1M (250 mL) y una disolución de sulfato de cobre 0,1 M (250 mL). Finalmente, los extractos orgánicos se secaron con sulfato de magnesio anhidro, se eliminó el desecante y seguidamente se evaporó el disolvente dando lugar a un sirupo amarillento que se purificó en columna cromatográfica, utilizando una mezcla de hexano y *tert*-butil metil éter (TBME) (1:1) como fase móvil. El producto final se secó a vacío, obteniéndose el compuesto **2** como un sólido blanco (7,04 g, 56,14 %) de punto de fusión (p.f.) 70-72 °C, cuyas características físicas coinciden con las descritas en la bibliografía (McCaig et al., 1994).

$^1\text{H-RMN}$  ( $\text{CDCl}_3$ , 500 MHz):  $\delta$  (ppm) 2,60 (sa, 1H, OH,  $J_{\text{OH-H}_2} = 5,7$  Hz), 2,70 (bs, 1H, OH), 2,72 (d, 1H, OH,  $J_{\text{OH-H}_3} = 2,0$  Hz), 3,25 (dd, 1H, H-5<sub>a</sub>,  $J_{\text{H}_5\text{a-H}_5\text{b}} = 9,5$  Hz), 3,30 (dd, 1H, H-1<sub>a</sub>,  $J_{\text{H}_1\text{-H}_2} = 6,0$  Hz,  $J_{\text{H}_1\text{a-H}_1\text{b}} = 9,5$  Hz), 3,36 (dd, 2H, H-1<sub>b</sub>/H-5<sub>b</sub>,  $J_{\text{H}_1\text{b-H}_2} = 4,7$  Hz), 3,61 (dt, 1H, H-3,  $J_{\text{OH-H}_3} = 1,6$  Hz,  $J_{\text{H}_2\text{-H}_3} = J_{\text{H}_3\text{-H}_4} = 6,7$  Hz), 3,85 (m, 1H, H-2), 3,96 (m, 1H, H-4), 7,22-742 (m, 30H, Ph).

$^{13}\text{C-RMN}$  ( $\text{CDCl}_3$ , 175 MHz):  $\delta$  (ppm) 64,8 (C-1), 66,0 (C-5), 69,4 (C-4), 71,5 (C-2), 72,1 (C-3), 87,0, 87,1 ( $\text{C}_{\text{Ph}_3}$ ), 127,2, 127,9, 128,6, 143,5, 143,6 (Ph).

##### 2,3,4-Tri-O-allyl-1,5-di-O-tritil-L-arabinitol (**3**)



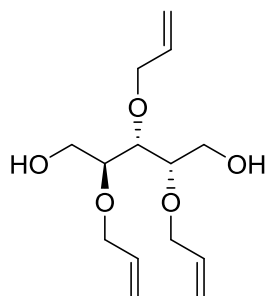
Se pesó hidruro de sodio (NaH) (1,45 g; 1,92 mmol) y se lavó con pentano seco (46,5 mL x 3) bajo atmósfera de argón. A continuación, se añadió tetrahidrofurano (THF) seco (11,5mL) y

se adicionó, gota a gota, una disolución del compuesto **2** (7 g; 11 mmol) en THF seco (46,5 mL), bajo atmósfera de argón, a 0 °C. La mezcla se agitó durante 1 h a 30 °C y posteriormente se añadió bromuro de alilo (3,15 mL, 36,45 mmol) y se dejó agitando durante 24 h a la misma temperatura. Transcurrido este tiempo se añadió metanol (5,38 mL) gota a gota y se agitó durante 1 h más a 30 °C. Tras dejar enfriar a temperatura ambiente, se evaporó el disolvente a presión reducida y el residuo obtenido se trató con una mezcla H<sub>2</sub>O-CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (1:1) (232 mL). La fase orgánica extraída se lavó con agua (58 mL) y se secó con MgSO<sub>4</sub> anhidro. Finalmente, se evaporó la fase orgánica obteniéndose un residuo que se purificó mediante cromatografía en columna utilizando una mezcla de TBME y hexano (1:9) como fase móvil. El compuesto esperado se obtuvo como un sólido blanco (5,92 g, 71,15%) de p.f. 66 °C [Lit. 65 - 66 °C (Ferris y cols., 2011)].

<sup>1</sup>H-RNM (CDCl<sub>3</sub>, 300 MHz): δ 3,10 (dd, 1H, H-5<sub>a</sub>, *J* = 4,2 y 10,2 Hz), 3,21 (dd, 1H, H-1<sub>a</sub>, *J* = 6,7 y 9,6 Hz), 3,41 (dd, 1H, H-1<sub>b</sub>, *J* = 5,5 y 9,4 Hz), 3,48 (dd, 1H, H-5<sub>b</sub>, *J* = 2,4 y 10,2 Hz), 3,61-3,68 (m, 1H, H-4), 3,74-3,80 (m, 2H, CH<sub>2</sub>CH=CH<sub>2</sub>), 3,81-3,88 (m, 1H, H- 2), 3,9-3,96 (m, 1H, H-3), 3,96-4,02, 4,09-4,17, 4,2-4,3 (m, 4H, 2CH<sub>2</sub>CH=CH<sub>2</sub>), 4,76- 4,87, 5,07-5,14, 5,16-5,26 (m, 6H, 3CH=CH<sub>2</sub>), 5,31-5,47, 5,8-6,11 (m, 3H, 3CH=CH<sub>2</sub>), 7,18-7,56 (m, 30H, Ph).

<sup>13</sup>C-RNM (CDCl<sub>3</sub>, 75 MHz): δ 62,5 (C-5), 62,9 (C-1), 71,6, 72,5, 73,8 (3CH<sub>2</sub>-CH=CH<sub>2</sub>), 77,8 (C-3), 78,1 (C-2, C-4), 86,6, 87,1 (2CPh<sub>3</sub>), 116,5, 116,8 (3CH=CH<sub>2</sub>), 127,0, 127,1, 127,9, 128,0, 129,0, 144,2, 144,3 (Ph), 135,2, 135,3, 135,5 (3CH=CH<sub>2</sub>).

#### 2,3,4-Tri-*O*-alil-L-arabinitol (**4**)



A una disolución de ácido *p*-toluensulfónico (*p*-TsOH) (3,05 g, 17,71 mmol) en una mezcla de CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>-MeOH (1:1) (54 mL) se le adicionó, gota a gota, una disolución del compuesto **3** (5,92 g, 21,76 mmol) en CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>-MeOH (1:1) (270mL), a temperatura ambiente y se mantuvo la agitación durante 22 h. Transcurrido este tiempo, la mezcla de reacción se neutralizó añadiendo bicarbonato sódico (NaHCO<sub>3</sub>) (5,33 g, 62,54 mmol) y se dejó bajo agitación media hora más. Posteriormente, se evaporó el CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> y parte del MeOH en el rotavapor, dando lugar

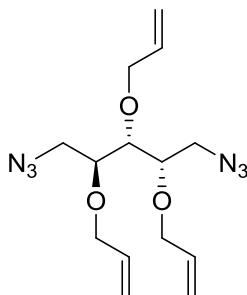


a una suspensión de sales, que se filtró a través de celita. Los filtrados obtenidos se evaporaron a sequedad y el residuo resultante se purificó mediante columna de cromatografía utilizando acetato de etilo (AcOEt) y hexano (1:2) como fase móvil. El producto **4** se obtuvo como un líquido espeso (1,8 g, 84,11%), cuyas características coincidieron con las descritas en la literatura (Ferris y cols., 2011).

$^1\text{H-RMN}$  ( $\text{CDCl}_3$ , 300 MHz):  $\delta$  2,29-2,50 (m, 2H, OH), 3,56-3,65 (m, 2H, H-2, H-4), 3,66- 3,89 (m, 5H, H-1<sub>a/b</sub>, H-3, H-6<sub>a/b</sub>), 4,00-4,29 (m, 6H, 3 $\text{CH}_2\text{CH}=\text{CH}_2$ ), 5,12-5,34 (m, 6H, 3 $\text{CH}=\text{CH}_2$ ), 5,82-6,01 (m, 3H, 3 $\text{CH}=\text{CH}_2$ ).

$^{13}\text{C-RMN}$  ( $\text{CDCl}_3$ , 75 MHz):  $\delta$  60,8 (C-5), 61,7 (C-1), 71,2, 72,0, 73,7 (3 $\text{CH}_2\text{-CH=}$ ), 79,1, 79,2, 79,3 (C-2, C-3, C-4), 117,5, 117,6, 117,8 (3 $\text{CH}=\text{CH}_2$ ), 134,6, 134,8, 134,9 (3 $\text{CH}=\text{CH}_2$ ).

### 1,5-Diazido-1,5-didesoxi-2,3,4-tri-O-alil-L-arabinitol (**5**)



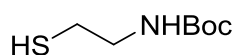
A una disolución de trifenilfosfato (6,55 g, 25 mmol) en tetrahidrofurano (THF) seco (28 mL) en baño de hielo a 0 °C se le adicionó gota a gota una solución de dietilazocarboxilato (DEAD) en tolueno al 40% (11,4 mL, 24,9 mmol) y se agitó durante cinco minutos. Posteriormente se añadió difenilfosforilazida (DPPA) (5,14 mL, 23,8 mmol) gota a gota y, seguidamente, una suspensión del compuesto **4** (1,54 g, 5,67 mmol) en THF (28 mL). Se agitó durante 3 h a temperatura ambiente y transcurrido este tiempo se evaporó el disolvente en rotavapor para dar lugar a un residuo naranja que se purificó por columna de cromatografía empleando una mezcla de TBME/Hexano 1:5 como eluyente. El compuesto **5** se obtuvo como un líquido incoloro (0,83 g, 45%).

IR:  $\nu_{\text{max}}$  ( $\text{cm}^{-1}$ ) 2101 (azida)

$^1\text{H-RMN}$  ( $\text{CDCl}_3$ , 500 MHz):  $\delta$  3,21- 3-78 (m, 7H, H-1<sub>a/b</sub>, H-2, H-3, H-4, H-5<sub>a/b</sub>), 3,86- 4,19 (m, 6H,  $\text{CH}_2\text{CH}=\text{CH}_2$ ), 5,06- 5,28 (m, 6H,  $\text{CH}_2\text{CH}=\text{CH}_2$ ), 5,74- 5,92 (m, 3H,  $\text{CH}_2\text{CH}=\text{CH}_2$ ).

$^{13}\text{C-RMN}$  ( $\text{CDCl}_3$ , 175 MHz):  $\delta$  50,7, 51,7 (C-1, C-5), 71,4, 72,7, 73,9 ( $\text{CH}_2\text{CH}=\text{CH}_2$ ), 78,1, 78,2, 78,5 (C-2, C-3, C-4), 117,6, 117,7 ( $\text{CH}_2\text{CH}=\text{CH}_2$ ), 134,3, 134,5, 134,6 ( $\text{CH}_2\text{CH}=\text{CH}_2$ ).

### Terc-butil(2-mercaptoetil)carbamato (10)



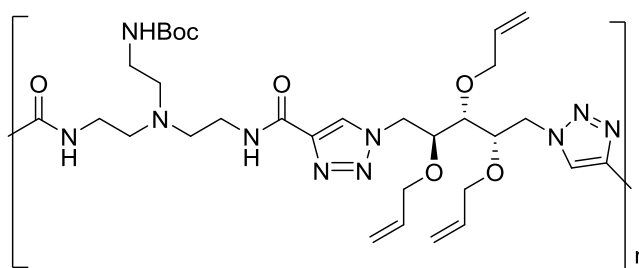
A una disolución de cisteamina (2 g, 26 mmol) en agua (30 mL) se le añadió di-*terc*-butildicarbonato (6,23 g, 28,7 mmol), poco a poco, y se agitó durante 6 h a temperatura ambiente. A continuación la mezcla de reacción se extrajo con  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  (120 mL x 3) y la fase orgánica se secó con  $\text{MgSO}_4$  y evaporó a sequedad para dar un residuo que se purificó en columna de cromatografía utilizando una mezcla de TBME-hexano (1:2) como fase móvil. El compuesto deseado se obtuvo un líquido siruposo (2,24 g, 52%) con las mismas características que se describen en la literatura para este compuesto (Ferris y cols., 2012).

$^1\text{H-RMN}$  ( $\text{CDCl}_3$ , 300 MHz):  $\delta$  1,34 (t, 1H, SH,  $J = 8,58$  Hz), 1,45 (s, 9H,  $3\text{CH}_3$ ), 2,58- 2,70 (m, 2H,  $\text{CH}_2\text{SH}$ ), 3,22-3,38 (m, 2H,  $\text{CH}_2\text{NH}$ ), 4,91 (bs, 1H, NH).

$^{13}\text{C-RMN}$  ( $\text{CDCl}_3$ , 75 MHz):  $\delta$  25,3 ( $\text{CH}_2\text{S}$ ) 28,6 ( $\text{CH}_3$ ), 43,8 ( $\text{CH}_2\text{N}$ ), 79,8 [ $\text{C}(\text{CH}_3)_3$ ], 155,9 (CO).

### 4.3. Síntesis de politriazoles

#### Politriazol 1



Una suspensión del dialquino (**8**) (223,8 mg, 0,64 mmol) en una mezcla de *terc*-butanol-agua 1:1 (1,84 mL) se añadió sobre la diazida (**5**) (205,76 mg, 0,64 mmol). A continuación se agregó  $\text{CuSO}_4$  (31,8 mg, 127,35 mmol) y ascorbato de sodio (50,51 mg, 0,255 mmol) y la mezcla se agitó a 50 °C durante 24 horas. Al cabo de este tiempo se retiró el sobrenadante y el residuo se disolvió en la mínima cantidad de dimetilsulfóxido (DMSO) y se vertió gota a gota sobre TBME frío (200 mL). El sólido precipitado se filtró y se secó a vacío para dar lugar al polímero **PT1** como un sólido amarillo (318 mg, 74%).

$M_w$  82.729,  $M_n$  45.997  $M_w/M_n$  1,8.

IR:  $\nu_{\text{max}}$  ( $\text{cm}^{-1}$ ) 1650 (amida I), 1573 (amida II).

$^1\text{H-RMN}$  ( $\text{DMSO}-d_6$ , 500 MHz):  $\delta$  1,36 (s, 9H,  $\text{CH}_3$ ), 2,58-2,80 (m, 6H,  $\text{CH}_2\text{N}$ ), 2,90-3,07 (m, 2H,  $\text{CH}_2\text{NH-Boc}$ ), 3,53-4,38 (m, 9H, H-2, H-3, H-4,  $\text{CH}_2\text{CH}=\text{CH}_2$ ), 4,39- 4,89 (m, 4H, H1<sub>a/b</sub>, H6<sub>a/b</sub>),

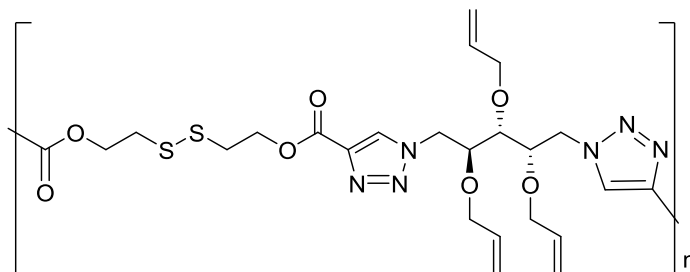
4,91 5,42 (m, 4H, CH<sub>2</sub>CH=CH<sub>2</sub>), 5,8- 6,08 (m, 3H, CH<sub>2</sub>CH=CH<sub>2</sub>), 6,67 (sa, 1H, NHBoc), 8,41 (sa, 2H, NH cadena), 8,49- 8,63 (m, 2H, CH triazol).

<sup>13</sup>C-RMN (DMSO-d<sub>6</sub>, 175 MHz): δ 28,2 (CH<sub>3</sub>), 36,8 (CH<sub>2</sub>NH), 50,3, 51,0 (C1-C6), 53,2 (NCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>NH), 53,4 (NCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>NHBoc), 70,3, 71,6, 72,7 (CH<sub>2</sub>CHCH<sub>2</sub>), 77,5 [C(CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>], 77,8, 78,0, 78,1 (C-2, C-3, C-4), 116,6, 116,9 (CH<sub>2</sub>CH=CH<sub>2</sub>), 127,2 (CH triazol), 134,4, 135,0 (CH<sub>2</sub>CH=CH<sub>2</sub>), 142,7, 142,8 (C cuaternario triazol), 155,6 (CO Boc), 159,6 (CO cadena).

**TGA:** T<sub>d</sub>: 202 °C (temperatura de descomposición asociada al 10 % de la pérdida de peso) y T<sub>ds</sub>: 333 °C (máxima temperatura de descomposición asociada al 90 % de la pérdida de peso).

**DSC:** T<sub>g</sub>: 80 °C.

### Politriazol 2



A una suspensión del dialquino (**9**) (202 mg, 0,78 mmol) en una mezcla de *terc*-butanol-agua 1:1 (2,2 mL) se añadió sobre la diazida (**5**) (252 mg, 0,78 mmol). A continuación se agregó CuSO<sub>4</sub> (38,94 mg, 155,96 mmol) y ascorbato de sodio (61,86 mg, 0,31 mmol) y la mezcla se agitó a 50 °C durante 24 horas. El politriazol **PT2** se aisló como un sólido marrón siguiendo el procedimiento descrito anteriormente (420 mg, 92%).

$M_w$ 28.416,  $M_n$ 26.629,  $M_w/M_n$ 1,1.

IR:ν<sub>max</sub> (cm<sup>-1</sup>) 1731 (CO).

Debido a la baja solubilidad que presentó este material en los disolventes deuterados habituales, no fue posible obtener los correspondientes espectros de RMN.

**TGA:** T<sub>d</sub>: 154 °C (temperatura de descomposición asociada al 10 % de la pérdida de peso) y T<sub>ds</sub>: 289,95 °C (máxima temperatura de descomposición asociada al 90 % de la pérdida de peso).

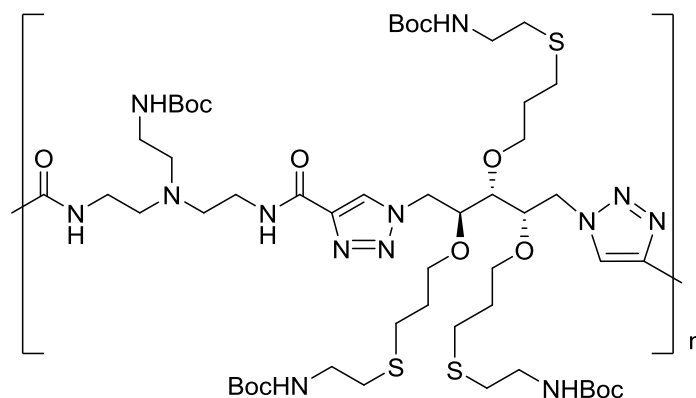
**DSC:** T<sub>g</sub>: 80,2 °C.

### Método general para la funcionalización de politriazoles mediante reacciones *click* tiol-eno.

En un matraz de fondo redondo se introdujo el politriazol correspondiente **PT1** o **PT4** (200 mg), se sometió a 3 ciclos de argón/vacío y se le añadió *N,N'*-dimetilformamida DMF (2,5 mL) hasta obtener una disolución homogénea. A continuación se añadió el compuesto **10** (16 eq.) y, poco a poco el catalizador azobisisobutironitrilo (AIBN, 0,8 eq. por grupo alilo), disuelto en 0,3 mL de DMF. La mezcla de reacción se fue calentando poco a poco hasta 80 °C y se dejó agitando 24 h a esta temperatura.

Finalmente, la mezcla se vertió poco a poco sobre dietil éter (250 mL) y el sólido precipitado se filtró, se lavó con éter y se secó a vacío a 40 °C. Los polímeros **PT3** y **PT5** se obtuvieron como sólidos coloreados.

#### Politriazol 3



Rto. 43%;  $M_w$ 67.150,  $M_n$ 42.036,  $M_w/M_n$ 1,6.

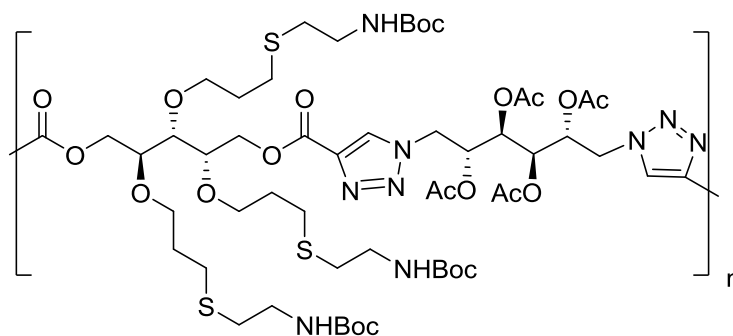
IR:  $\nu_{\max}$  (cm<sup>-1</sup>) 1690 (amida I *Boc*), 1657 (amida I *cadena*), 1573 (amida II *cadena*), 1513 (amida II, *Boc*).

<sup>1</sup>H-RMN (DMSO-*d*<sub>6</sub>, 500 MHz):  $\delta$  1,36 (sa, CH<sub>3</sub>), 1,51- 1,89 (m, OCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>S), 2,27-2,81 (m, SCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>NH, OCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>S, CH<sub>2</sub>N), 2,89-3,17 (m, SCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>NH, CH<sub>2</sub>NHBoc), 3,21-3,47 (m, CH<sub>2</sub>NH *cadena*), 3,47- 4,37 (m, OCH<sub>2</sub>, H-2, H-3, H-4), 4,45- 4,88 (m, H-1, H-6), 4,93 5,38 (m, CH<sub>2</sub>CH=CH<sub>2</sub>), 5,55-6,03 (m, CH<sub>2</sub>CH=CH<sub>2</sub>), 6,65 (sa, 1H, NCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>NHBoc), 8,39 (sa, 2H, NH *cadena*), 8,46- 8,70 (m, 2H, CH triazol).

<sup>13</sup>C-RMN (DMSO-*d*<sub>6</sub>, 175 MHz):  $\delta$  27,4, 27,6 (OCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>S), 28,2 (CH<sub>3</sub>), 29,3, 29,5 (OCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>S), 30,8 (SCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>NH), 36,8 (NCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>NH), 38,4 (NCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>NHBoc), 39,9 (SCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>NH), 50,3, 50,6, 50,9 (C-1, C-6), 53,2, 53,5 (NCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>NH), 70,3, 71,6, 72,7 (OCH<sub>2</sub>), 77,5

[C(CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>], 77,8, 78,0, 78,2 (C-2, C-3, C-4), 116,7, 116,8, 116,9 (CH<sub>2</sub>CH=CH<sub>2</sub>), 127,2, 128,7 (CH triazol), 134,5 (CH<sub>2</sub>CH=CH<sub>2</sub>), 142,8 (carbón cuaternario triazol), 155,4, 155,6 (CO Boc), 159,62 (CO cadena).

### Politriazol 5



Rto. 47 %;  $M_w$  59.954,  $M_n$  43.189,  $M_w/M_n$  1,4.

IR:  $\nu_{\max}$  (cm<sup>-1</sup>) 1748 (CO acetilo), 1698 (amidal, NHBoc), 1519 (amidall, NHBoc).

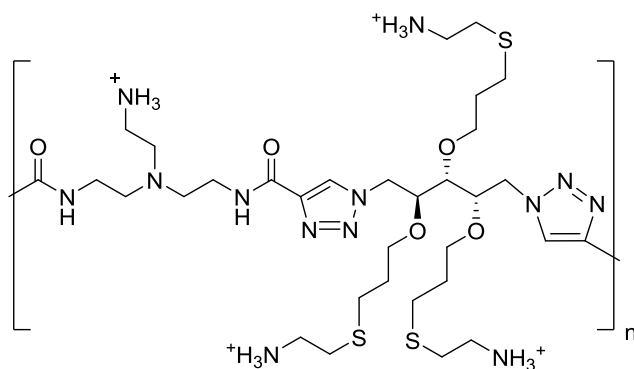
<sup>1</sup>H-RMN (DMSO-*d*<sub>6</sub>, 500 MHz):  $\delta$  1,36 (s, 27H, CH<sub>3</sub>Boc), 1,63-1,80 (m, 6H, OCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>S), 1,88, 2,08 (2s, 12H, OCOCH<sub>3</sub>), 2,39-2,61 (m, OCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>S, SCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>NH), 2,97-3,13 (m, 6H, SCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>NH), 3,46-3,91 (m, 9H, OCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>S, H-2', H-3', H-4'), 4,19-4,84 (m, 8H, H-1<sub>a/b</sub>, H-6<sub>a/b</sub>, H-1'<sub>a/b</sub>, H-5'<sub>a/b</sub>), 5,16-5,45 (m, 4H, H-2, H-3, H-4, H-5), 6,81 (sa, 3H, NHBoc), 8,77 (s, 2H, CH triazol).

<sup>13</sup>C-RMN (DMSO-*d*<sub>6</sub>, 175 MHz):  $\delta$  20,1, 20,6 (OCOCH<sub>3</sub>), 27,6 (OCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>S), 28,2 (CH<sub>3</sub>Boc), 29,6, 29,7, 29,8 (OCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>S), 30,7 (S<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>NH), 39,9 (SCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>NH), 49,1 (C-1, C-6, manitol), 63,5, 64,5 (C-1', C-5' arabinitol), 68,1, 68,4 (C-2, C-3, C-4, C-5 manitol), 69,5, 70,4 (OCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>S), 77,3, 78,4 (C-2', C-3', C-4', arabinitol), 77,6 (C cuaternario Boc), 130,0 (CH triazol), 138,6 (C cuaternario triazol), 155,4 (CO Boc), 160,0 (CO cadena), 168,8, 169,7 (OCOCH<sub>3</sub>).

### Procedimiento general de N-desprotección de los politriazoles

A un matraz conteniendo **PT3** o **PT5** (100 mg, 0,083 mmol y 150 mg, 0,115 mmol, respectivamente) se le añadió cloruro de hidrógeno 4N en dioxano seco (8,3 mL y 8,6 mL respectivamente) y se agitó 6 h a temperatura ambiente. Transcurrido este tiempo la mezcla obtenida se filtró, el sólido obtenido se lavó con TBME y se secó a vacío durante 24 h para dar lugar a los correspondientes politriazoles catiónicos **PT6** y **PT7**.

## Politriazol 6



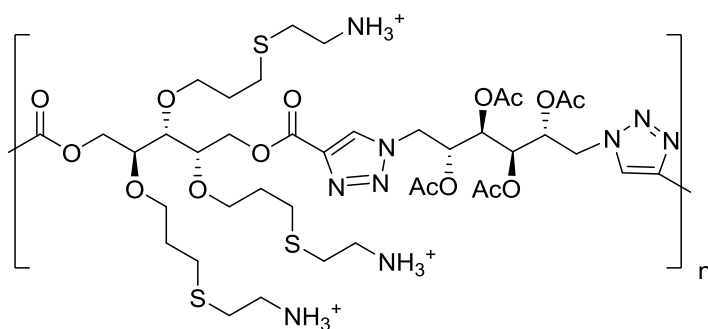
Rto. cuantitativo

IR:  $\nu_{\max}$  ( $\text{cm}^{-1}$ ) 2927 ( $\text{NH}_2$ ), 1648 (amida I), 1573 (amida II).

$^1\text{H-RMN}$  ( $\text{DMSO-}d_6$ , 500 MHz):  $\delta$  1,50-1,92 (2m,  $\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{S}$ ), 2,32-2,85 (m,  $\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{S}$ ), 2,88-3,17 ( $\text{CH}_2\text{NH}_2$ ), 3,27-4,35 (m,  $\text{SCH}_2\text{CH}_2\text{NH}_2$ ,  $\text{CH}_2\text{N}$ ,  $\text{CH}_2\text{NH}$ ,  $\text{OCH}_2$ , H-2, H-3, H-4), 4,42-4,92 (m, H-1, H-6), 4,98-5,42 (m,  $\text{CH}_2\text{CH}=\text{CH}_2$ ), 5,54-6,05 (m,  $\text{CH}_2\text{CH}=\text{CH}_2$ ), 8,25 (sa,  $\text{NH}_3^+$ ), 8,56 (sa, NH), 8,86 (s, CH triazol).

$^{13}\text{C-RMN}$  ( $\text{DMSO-}d_6$ , 175 MHz):  $\delta$  27,3 ( $\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{S}$ ), 29,0, 29,5 ( $\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{S}$ ), 33,2 ( $\text{SCH}_2\text{CH}_2\text{NH}_2$ ), 37,8 ( $\text{SCH}_2\text{CH}_2\text{NH}_2$ ), 38,4 ( $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{NH}_2$ ), 49,4 ( $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{NH}$ ), 50,6 (C-1, C-6), 51,6 ( $\text{CH}_2\text{N}$ ), 70,5 ( $\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{S}$ ,  $\text{OCH}_2\text{CH}=\text{CH}_2$ ), 78,1, 78,6 (C-3, C-4, C-5), 116,6, 118,8 ( $\text{OCH}_2\text{CH}=\text{CH}_2$ ), 127,7 (CH triazol), 134,2 ( $\text{OCH}_2\text{CH}=\text{CH}_2$ ), 142,2 (C cuaternario triazol), 160,3, 160,5 (CO).

## Politriazol 7



Rto. cuantitativo

IR:  $\nu_{\max}$  ( $\text{cm}^{-1}$ ) 2952 ( $\text{NH}_2$ ), 1746 (CO acetilo), 1733 (CO cadena).

$^1\text{H-RMN}$  ( $\text{DMSO-}d_6$ , 500 MHz):  $\delta$  1,68-1,83 (m, 6H,  $\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{S}$ ), 1,90, 2,14 (2s, 12H,  $\text{OCOCH}_3$ ), 2,54-2,66 (m, 6H,  $\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{S}$ ), 2,69-2,81 (m, 6H  $\text{SCH}_2\text{CH}_2\text{NH}$ ), 2,88-3,00 (m, 6H,

$\text{CH}_2\text{NH}_2$ ), 3,50-3,96 (m, 9H,  $\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{S}$ , H-2', H-3', H-4'), 4,19-4,93 (m, 8H, H-1<sub>a/b</sub>, H-6<sub>a/b</sub>, H-1'<sub>a/b</sub>, H-6'<sub>a/b</sub>), 5,14-5,49 (m, 4H, H-2, H-3, H-4, H-5), 8,22 (sa, 6H,  $\text{NH}_3^+$ ), 8,93 (s, 2H, CH triazol).

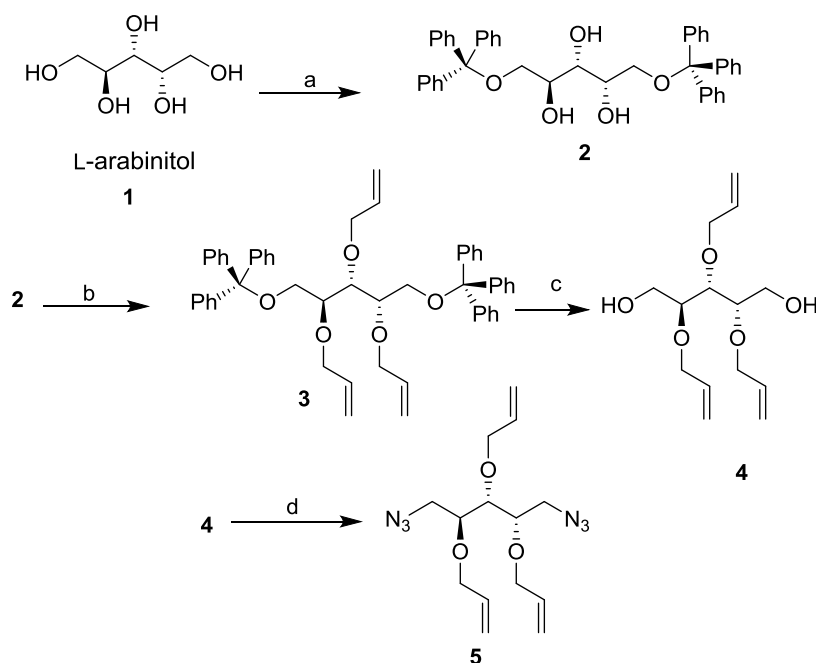
$^{13}\text{C}$ -RMN (DMSO- $d_6$ , 175 MHz):  $\delta$  20,3, 20,7 ( $\text{OCOCH}_3$ ), 27,3 ( $\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{S}$ ), 27,7 ( $\text{SCH}_2\text{CH}_2\text{NH}_2$ ), 29,5 ( $\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{S}$ ), 38,4 ( $\text{CH}_2\text{NH}$ ), 50,0 (C-1, C-6), 63,7, 64,5 (C-1', C-5'), 68,1, 68,4 (C-2, C-3, C-4, C-5), 69,5, 70,3 ( $\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{S}$ ), 76,9, 78,4 (C-2', C-3', C-4'), 130,2 (CH triazol), 138,5 (C cuaternario triazol), 160,1 (CO cadena), 168,9, 169,8 ( $\text{OCOCH}_3$ ).

## 5. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

### 5.1.1. Síntesis y caracterización de monómeros

En primer lugar, se describe la síntesis de monómeros difuncionales con el fin de obtener politriazoles por reacciones de acoplamiento azida-alquino.

A partir de L-arabinitol se sintetizó el monómero **5** según se indica en el Esquema 1. Se hizo reaccionar L-arabinitol con cloruro de trifenilmetilo, utilizando como disolvente piridina. Como resultado de esta reacción se obtuvo el correspondiente derivado **2**, con los hidroxilos primarios protegidos, como un sólido blanco de punto de fusión 70 °C y un rendimiento del 56,14%. El tratamiento de este compuesto con bromuro de alilo en presencia de hidruro sódico, condujo al 2,3,4-tri-*O*-alil-1,5-di-*O*-tritol-L-arabinitol (**3**), como un sólido blanco con un rendimiento del 71,15%. El compuesto **3** se trató con ácido *p*-toluensulfónico en MeOH, para eliminar los grupos trilito, dando como resultado el 2,3,4-tri-*O*-alil-L-arabinitol (**4**), cuyas características fisicoquímicas coincidieron con las descritas en la literatura, a pesar de que el método de preparación no fue el mismo que se indica en la literatura (Ferris et al., 2011). Finalmente, el compuesto **4** se trató con trifenilfosfina, utilizando THF como disolvente y a la que se añadió DEAD y DPPA gota a gota. Finalmente se agitó durante 3 h a temperatura ambiente. La diazida deseada (**5**) se obtuvo como un líquido ligeramente coloreado con un rendimiento del 40%.



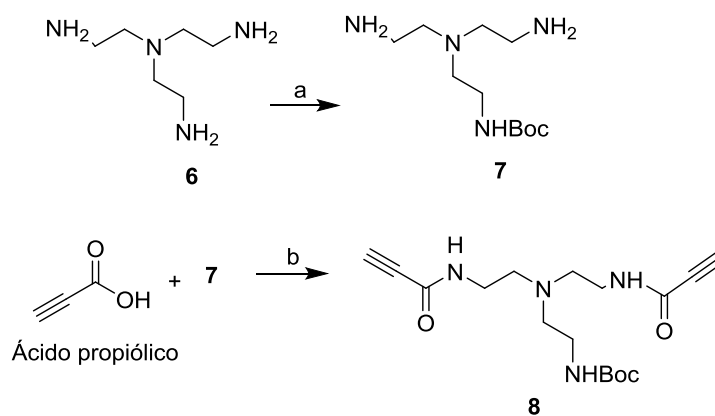
**Esquema 1.** Síntesis de los monómeros. a)  $\text{Ph}_3\text{CCl}$ , Py; b) Bromuro de alilo, NaH, THF, 30 °C; c) *p*-TsOH,  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ -MeOH, d)  $(\text{Ph}_3\text{P})/\text{THF}$ , DEAD, DPPA, 0 °C.



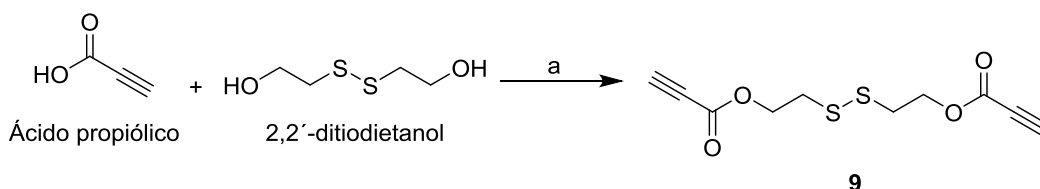
Todos los compuestos sintetizados se caracterizaron por infrarrojo (IR:  $\nu_{\max}$ ) y RMN ( $^1\text{H}$  y  $^{13}\text{C}$ ) observándose las señales esperadas. Los espectros de RMN obtenidos para los productos **2-4** coincidieron con los descritos en la literatura para estos compuestos.

Para el compuesto **5** en el espectro  $^1\text{H}$ -RMN se puede observar desde  $\delta$  3,21 a 3,78 ppm un multiplete característico de los protones unidos a oxígeno formando parte de los grupos protectores. A  $\delta$  5,28 y 5,92 se encuentran las señales debidas a los protones alílicos de los grupos funcionales introducidos en el azúcar. Por otro lado, en el espectro de  $^{13}\text{C}$ -RMN se pueden ver las señales correspondientes a los carbonos de esos protones mencionados anteriormente a  $\delta$  71,4, 72,7, 73,9, 117,6, 117,7, 134,3, 134,5 y 134,6 ppm. El espectro de masas de este compuesto mostró un valor del pico base de 399,1 ppm, lo que corresponde al ión molecular de compuesto **5** junto con el ión sodio. Toda esta información nos indica que se ha incorporado el grupo azida al azúcar tal y como se esperaba.

El monómero **5** se hizo reaccionar con los monómeros **8** y **9** (Esquemas 2 y 3). Los monómeros **8** y **9** habían sido previamente sintetizados en el grupo de investigación (resultados no publicados) para obtener los politriazoles **PT1** y **PT2** (Esquema 5).

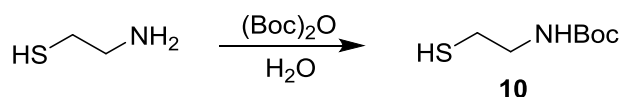


**Esquema 2.** Síntesis del monómero **8**. a)  $(\text{Boc})_2\text{O}$ , dioxano; b) DCC,  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ ,  $0^\circ\text{C}$ .



**Esquema 3.** Síntesis del monómero **9**. a) Tolueno, *p*-TsOH, calor.

El compuesto **10** se obtuvo a partir de la cisteamina por reacción con butoxicarbonil dicarbonato según la metodología descrita (Ferris y cols., 2012) según se muestra en el Esquema 4. Las reacciones tio-eno de **10** sobre los PT *O*-alilados condujeron a los politriazoles precursores de los PT catiónicos (Esquema 6).

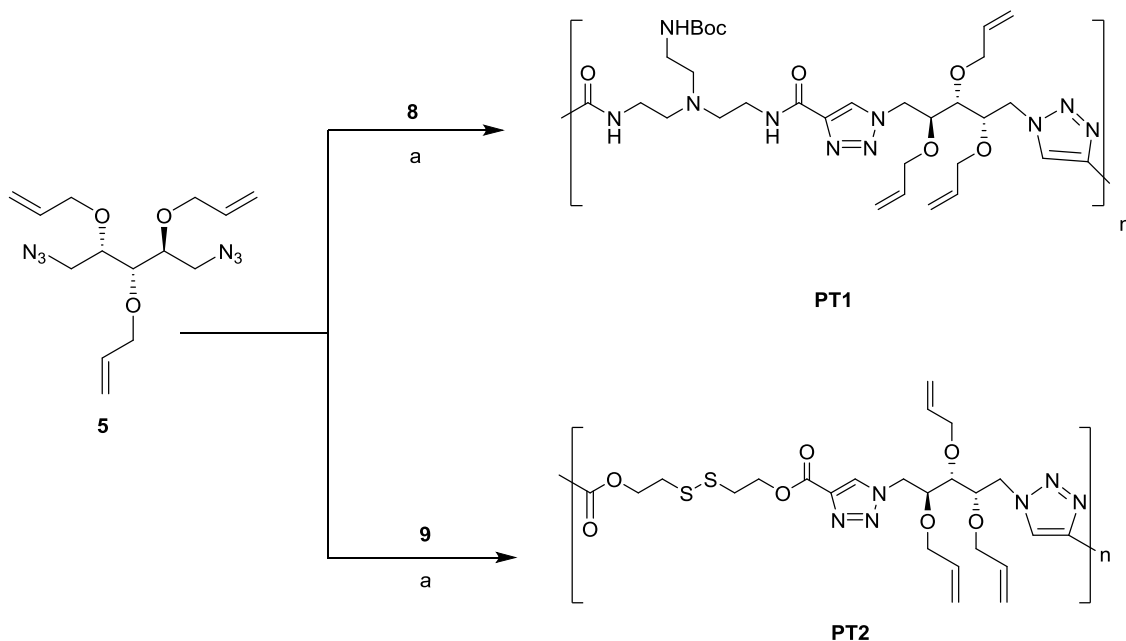


Esquema 4. Síntesis del compuesto **10**.

### 5.1.2. Síntesis y caracterización de politriazoles

Se han preparado los politriazoles **PT1** y **PT2** mediante la reacción de cicloadición 1,3-dipolar azida-alquino catalizada por cobre (I) de diazido derivado de L-arabinitol (**5**) y los monómeros **8** y **9**, respectivamente. Para estas reacciones se empleó una mezcla de *tert*-butanol-H<sub>2</sub>O 1:1, y se calentó a 50 °C, durante 24 h, en presencia de CuSO<sub>4</sub>·5H<sub>2</sub>O y ascorbato sódico para generar *in situ* el agente catalizador [Cu (I)] (Esquema 5).

De esta manera, se obtuvieron los politriazoles **PT1** y **PT2** con rendimientos del 74 y 92%, respectivamente.



Esquema 5. Síntesis **PT1** y **PT2**. a) CuSO<sub>4</sub>·5H<sub>2</sub>O, ascorbato sódico, *tert*-butanol-H<sub>2</sub>O 1:1.

Los cromatogramas obtenidos por Comatrografía de Permeación en Gel (GPC) de los politriazoles mostraron pesos moleculares promedio en peso de 82.729 y 28.036 g/mol, respectivamente, y polidispersidades muy bajas, lo que indica que las cadenas formadas son muy homogéneas en cuanto a su tamaño (Tabla 1).

**Tabla 1.** Pesos moleculares y polidispersidad obtenidos mediante GPC.

Politriazol	$M_w$	$M_n$	Polidispersidad
PT1	82.729	45.997	1,8
PT2	28.036	26.471	1,1

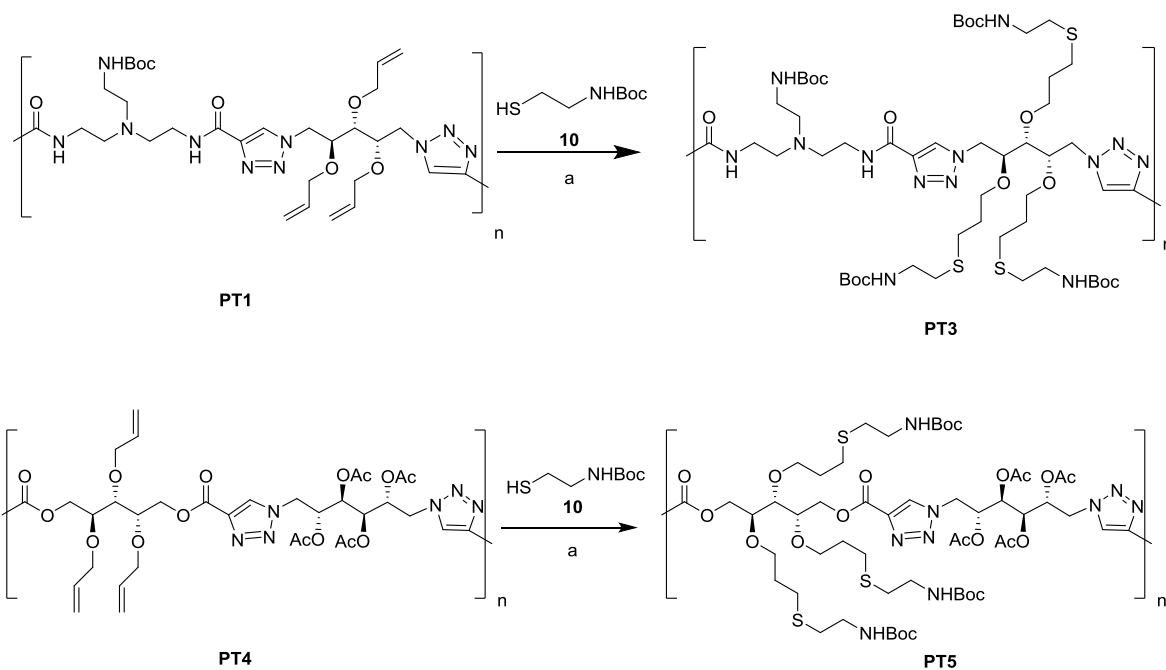
Peso molecular promedio en peso ( $M_w$ ) ( $\text{g mol}^{-1}$ ) y en número ( $M_n$ ) y polidispersidades medidos en DMF/LiBr, como fase móvil frente a estándares de poliestireno.

El siguiente paso propuesto sería introducir grupos amino protonables (procedentes del compuesto **10**) en las cadenas para que estos puedan interactuar con las cargas negativas del ADN y formar los complejos de polímeros (poliplejos) que más tarde se convertirán en compuestos usados en la transfección genética.

El politriazol **PT2** resultó ser poco soluble en los disolventes deuterados habituales para poder confirmar su estructura por RMN. El grupo de investigación seguirá trabajando sobre este compuesto debido al interés estructural que presenta.

El politriazol **PT4** había sido obtenido previamente en el grupo de investigación. En este TFG se ha procedido a la adición del derivado de cisteamina (Esquema 6) y posteriormente a la desprotección de los grupos *N*-Boc (Esquema 7) como se expone a continuación.

Los polímeros **PT1** y **PT4** se sometieron a tres ciclos de argon/vacío y se les añadió DMF. Después se les añadió el compuesto **10** derivado de la cisteamina, poco a poco se adicionó AINB en DMF. Finalmente la mezcla se calentó a 80 °C y se agitó durante 24 h. Transcurrido ese tiempo, las mezclas se precipitaron en éter, se lavaron con más éter y los sólidos obtenidos se secaron a vacío a 40 °C (Esquema 6). Así, se obtuvieron los politriazoles **PT3** y **PT5** con rendimientos del 43 y 47%, respectivamente.



**Esquema 6.** Síntesis **PT3** y **PT5**. a) DMF, AIBN, 80 °C.

Los espectros de Resonancia Magnética Nuclear mostraron las señales esperadas para **PT3** y **PT5**. Así, en el espectro de protones del compuesto **PT3**, se observaron señales a  $\delta$  2,89-3,17 ppm correspondientes al grupo  $\text{CH}_2\text{NHBoc}$ . La señal  $\delta$  3,21-3,47 ppm se identificó como  $\text{CH}_2\text{NH}$  de la cadena. Esto lo podemos observar también en el espectro de IR, donde las bandas 1690 y 1513  $\text{cm}^{-1}$  corresponden a las amidas I y II del grupo Boc. Por otro lado encontramos señales de las amidas de la cadena en 1657 y 1573  $\text{cm}^{-1}$ .

En el espectro de carbono-13 en las señales  $\delta$  30,8 se asignan a  $\text{SCH}_2\text{CH}_2\text{NH}$  y la señal  $\delta$  38,4 ppm a  $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{NHBoc}$ .

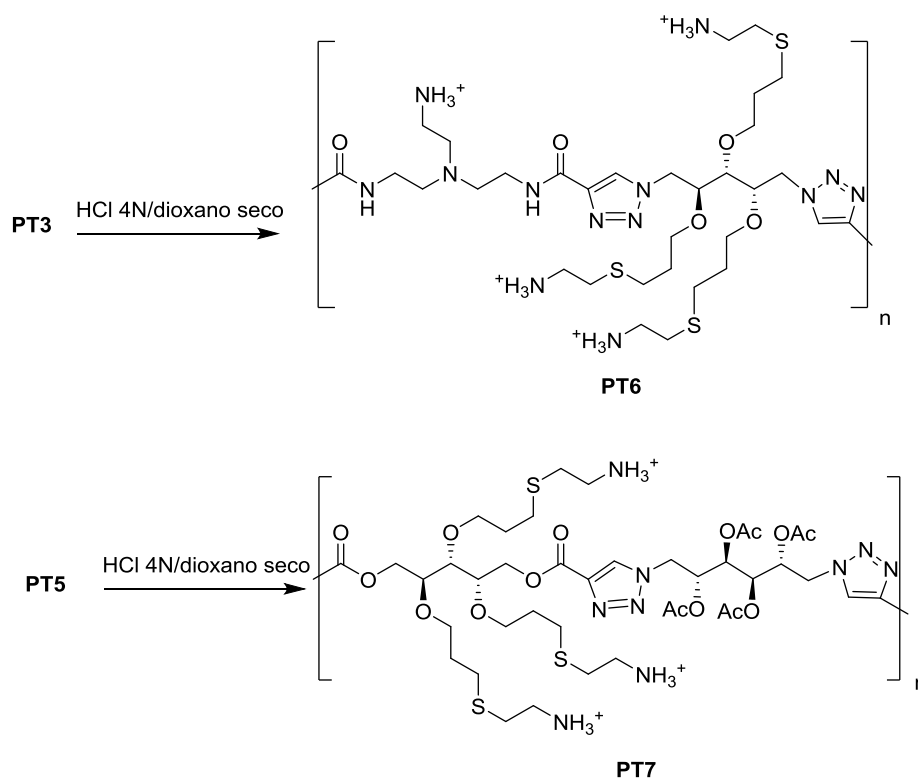
Los cromatogramas obtenidos por Cromatografía de Permeación en Gel (GPC) de los politriazoles mostraron pesos moleculares promedio en pesos de 42.036 y 43.189 g/mol, respectivamente, y polidispersidades bajas (Tabla 2).

**Tabla 2.** Pesos moleculares y polidispersidad obtenidos mediante GPC.

Politriazol	<i>M<sub>w</sub></i>	<i>M<sub>n</sub></i>	Polidispersidad
<b>PT3</b>	67.150	42.036	1,6
<b>PT5</b>	59.954	43.189	1,4

Peso molecular promedio en peso (*M<sub>w</sub>*) ( $\text{g mol}^{-1}$ ) y en número (*M<sub>n</sub>*) y polidispersidades medidos en DMF/LiBr, como fase móvil frente a estándares de poliestireno.

Posteriormente se procedió a la desprotección de los grupos amino por tratamiento con cloruro de hidrógeno en dioxano seco durante 6 h, obteniéndose así los **PT6** y **PT7** catiónicos según se indica en el Esquema 7.



**Esquema 7.** Síntesis de **PT6** y **PT7**.

Los espectros de Resonancia Magnética Nuclear mostraron las señales esperadas para los **PT6** Y **PT7**. Así, en el espectro de protones del compuesto **PT6**, se observaron señales asignadas a CH<sub>2</sub> contiguos a nitrógenos a  $\delta$  2,88 a 3,17, de 3,27 a 4,35 ppm. A  $\delta$  8,25 ppm se pudo observar un singulete ancho correspondiente al grupo amino. En la descripción del espectro que se expone en la parte experimental de este trabajo no está recogida la señal a  $\delta$  2,32-2,85 ppm debido a que los protones de CH<sub>2</sub> unidos a azufre, aparece solapada con la señal debida al agua contenida en el DMSO-*d*<sub>6</sub>. El análisis de los espectros bidimensionales de correlación heteronuclear <sup>1</sup>H-<sup>13</sup>C confirmó este solapamiento de señales. En el espectro de carbono-13 se observaron también las señales debidas a los carbonos del anillo de triazol, apareciendo la señal correspondiente al CH a  $\delta$  127,7 ppm y la del carbono cuaternario a  $\delta$  1422 ppm. En los espectros IR se observó la banda de absorción a 2927 cm<sup>-1</sup> correspondiente a amina primaria.

En el caso del compuesto **PT6** se observaron las señales de los protones de los grupos del compuesto derivado de la cisteamina, el compuesto **10** a desplazamientos similares a los registrados para **PT7**. De la misma manera aparece un singulete ancho a  $\delta$  8,22 ppm para el protón del anillo de triazol. Para este polímero se observa también un multiplete a  $\delta$  2,88-2,66 ppm debido a los protones de los  $\text{NH}_3^+$  que demuestran que están desprotegidos los hidroxilos secundarios del azúcar. La desprotección se observa también se ponen de manifiesto en el espectro de carbono, donde aparece una señal en torno a  $\delta$  38,4 ppm para el  $\text{CH}_2$  contiguo a los  $\text{NH}_3^+$ . En este espectro de carbono-13 también se observan las señales correspondientes a los carbonos del anillo de triazol a  $\delta$  130,2 ppm para el CH y a  $\delta$  138,5 ppm para el carbono cuaternario. Confirmamos la desaparición del grupo Boc y con ello la desprotección del compuesto. El IR no presenta bandas de carbamato de los grupos Boc.

Investigaciones futuras del grupo de investigación estudiarán la toxicidad y perfiles de seguridad de estos nuevos materiales y sus aplicaciones como posibles agentes de transfección génica.

## 6. CONCLUSIONES

En este Trabajo Fin de Grado se ha preparado un nuevo monómero derivado del monosacárido L-arabinitol conteniendo grupos azida y los grupos hidroxilo secundarios funcionalizados con grupos *O*-alilo.

A partir de este nuevo monómero y otros monómeros previamente sintetizados en el Grupo de Investigación, se han obtenido politriazoles precursores de otros politriazoles catiónicos.

Los nuevos politriazoles se han preparado mediante reacciones de cicloadición 1,3-dipolares catalizadas por Cu (I) con diferentes derivados dialquínicos.

La presencia de L-arabinitol y D-manitol, en las cadenas poliméricas de los nuevos materiales debe facilitar la biodegradabilidad de los nuevos materiales. Los politriazoles que presentan grupos disulfuro pueden favorecer la degradación del polímero en ambientes hipóxicos.

Los nuevos politriazoles se han obtenido con buenos rendimientos, elevados pesos moleculares, bajas polidispersidades y han sido caracterizados mediante técnicas espectroscópicas Infrarrojo y Resonancia Magnética Nuclear. También se han determinado los tamaños moleculares mediante GPC y se ha realizado el estudio de estabilidad térmica.

Los polímeros policatiónicos son hidrosolubles, característica importante según los objetivos de este TFG para formar poliplejos con ADN.

Los estudios toxicidad, perfiles de seguridad y transfección serán continuados por el grupo de investigación.

## 7. BIBLIOGRAFÍA

Ahmed M, Narain R. Progress of RAFT based polymers in gene delivery. *Prog Polym Sci.* 2013; 38(5): 767-790.

Andrés Suárez. *An. Quím.* 2012; 108(4), 306–313.

Asayama, S.; Maruyama, A.; Cho, C.S.; Akaike, T. Design of Comb-Type Polyamine Copolymers for a Novel pH-Sensitive DNA Carrier. *Bioconjug. Chem.* 1997, 8, 833–838.

Bies C, Lehr CM, Woodley JF. Lectin-mediated drug targeting: history and applications. *Adv Drug Deliv Rev.* 2004; 56(4): 425-435.

Blaese RM, Culver KW, Miller AD, Carter CS, Fleisher T, Clerici M y cols. T-lymphocyte-directed gene-therapy for ada(-) scid-initial trial results after 4 years. *Science.* 1995; 270(5235): 475-480.

Branca MA. Gene therapy: cursed or inching towards credibility. *Nat Biotechnol.* 2005; 23(5): 519-521.

Bueno M, Molina I, Galbis JA. Degradable “click” polyesters from erythritol having free hydroxyl groups. *Polym Degrad Stabil.* 2012; 97(9): 1662-1670.

Bueno M, Molina I, Hakkou K, Galbis JA. Synthesis and characterization of copoly(amide triazole)s derived from D-glucose. *J Polym Sci.* 2015; 53(3): 413-421.

Boussif, O.; Lezoualc’h, F.; Zanta, M.A.; Mergny, M.D.; Scherman, D.; Demeneix, B.; Campiñez MD, Benito E, Romero-Azogil L, Aguilar-de-Leyva A, García-Martín MG, Galbis JA. Development and characterization of new functionalized polyurethanes for sustained and site-specific drug release in the gastrointestinal tract. *Eur J Pharm Sci.* 2017; 100: 285-295.



Campiñez MD, Ferris C, de Paz, MV, Aguilar-De-Leyva A, Galbis, JA, Caraballo I. A new biodegradable polythiourethane as controlled release matrix polymer. *Int J Pharm.* 2015; 480: 63-72.

Cavazzana-Calvo M, Hacein-Bey S, de Saint BG, Gross F, Yvon E, Nusbaum P et al. Gene therapy of human severe combined immunodeficiency (SCID)-X1 disease. *Science.* 2000; 288(5466): 669-672.

Cavazzana-Calvo M, Payen E, Negre O, Wang G, Hehir K, Fusil F et al. Transfusion independence and HMGA2 activation after gene therapy of human beta-thalassaemia. *Nature.* 2010; 467(7313): 318-322.

Díaz A. Plataformas Multifuncionales Basadas en Ciclodextrinas: Diseño de Antitoxinas del Ántrax y Vectores de Genes. 2010.

Ferris C, De Paz MV, Galbis JA. L-Arabinitol-Based Functional Polyurethanes. *J Polym Sci. A.* 2011; 49: 1147-1154.

Ferris C, De Paz MV, Galbis JA. Synthesis of Functional Sugar-Based Polyurethanes. *Chem Phys.* 2012; 213: 480-488.

Galbis JA, García-Martín MG, De Paz MV, Galbis E. Synthetic polymers from sugar-based monomers. *Chem Rev.* 2016; 116(3): 1600-36.

Gandini A. Polymers from renewable resources: A challenge for the future of macromolecular materials. *Macromolecules.* 2008; 41(24): 9491-9504.

Gansbacher B. Report of a second serious adverse event in a clinical trial of gene therapy for Xlinked severe combined immune deficiency (X-SCID) - Position of the European Society of Gene Therapy (ESGT). *J Gene Med.* 2003; 5(3): 261-262.

Hacein-Bey-Abina S, Garrigue A, Wang GP, Soulier J, Lim A, Morillon E et al. Insertional oncogenesis in 4 patients after retrovirus-mediated gene therapy of SCID-X1. *J Clin Invest.* 2008; 118(9): 3132-3142.

Hakkou K, Bueno M, Molina I, Galbis JA. Degradable poly(ester triazole)s based on renewable resources. *J Polym Sci.* 2015; 53(21): 2481-2493.

He D and Wagner E, Defined polymeric materials for gene delivery, *Macromol. Biosci.*, 2015, 15, 600–612.

Himo F, Lovell T, Hilgraf R, Rostovtsev V V., Noodleman L, Sharpless KB, Fokin VV. Copper(I)-catalyzed Synthesis of Azoles. DFT study predicts unprecedented reactivity and intermediates. *J Am Chem Soc.* 2005;127(1):210-6.

Huo J, Hu H, Zhang M, Hu X, Chen M, Chen D, Liu J, Xiao G, Wang J, Wen Z, A mini review of the synthesis of poly-1,2,3-triazole-based functional materials, *RSC Adv.*, 2017, 7, 2281–2287.

Kihara Y, Maeda R, Imaizumi, A, Ichikawa, T, Nemoto, N, Ishihara T et al. Alkyne-Functionalized Cationic Polysiloxane Polymers Conjugated with Targeting Molecules by Click Reactions for DNA Delivery. *J Nanosci Nanotechnol.* 2017; 17(7): 5081-5089.

Kolb HC, Finn MG, Sharpless KB. Click chemistry: Diverse chemical function from a few good reactions. *Angew Chem Int Edit.* 2001; 40 (11): 2004-2021.

Liu Y, Wenning L, Lynch M, Reineke TM. New poly(D-glucaramidoamine)s induce DNA nanoparticle formation and efficient gene delivery into mammalian cells. *J Am Chem Soc.* 2004; 126(24): 7422-4723.

Marín R, De Paz MV, Ittobane N, Galbis JA, Muñoz-Guerra S. Hydroxylated Linear Polyurethanes Derived from Sugar Alditols. *Macromol Chem Phys.* 2009; 210(6): 486-494.

McCaig AE, Chomier B, Wightman RH. Hydroxylated piperidines - synthesis of 1,5-alkylimino-1,5-dideoxy derivatives of xylitol, D-arabinitol and L-arabinitol, and ribitol. *J Carbohydr Chem.* 1994; 13(3): 397-407.

Metzke M, O'Connor N, Maiti S, Nelson E, Guan Z. Saccharide-peptide hybrid copolymers as biomaterials. *Angew Chem Int Ed.* 2005; 44(40): 6529-6533.

Mintzer MA, Simanek EE. Nonviral Vectors for Gene Delivery. *Chem Rev.* 2009; 109(2): 259-302.

Molina I, Bueno M, Hakkou K, Galbis JA. Linear Poly(amide triazole)s Derived from D-Glucose. *J Polym Sci A.* 2014; 52(5): 629-638.

Nayak S, Herzog RW. Progress and prospects: immune responses to viral vectors. *Gene Ther.* 2010; 17(3): 295-304.

Ortiz C, Garcia JM, Benito JM. Cyclodextrin-based gene delivery systems. *Chem Soc Rev.* 2011; 40(3): 1586-1608.

Rosenberg LE, Schechter AN. Gene therapist, heal thyself. *Science.* 2000; 287(5459): 1751-1751.

Shahbazi MA, Almeida PV, Correia A, Herranz-Blanco B, Shrestha N, Mäkilä E. Intracellular responsive dual delivery by endosomolytic polyplexes carrying DNA anchored porous silicon nanoparticles. *J Control Release.* 2017; 249: 111-122.

Sheridan C. Gene therapy finds its niche. *Nat Biotechnol.* 2011; 29(2): 121-128.

Srinivasachari S, Liu Y, Zhang G, Prevet L, Reineke TM. Trehalose click polymers inhibit nanoparticle aggregation and promote pDNA delivery in serum. *J Am Chem Soc.* 2006; 128(25): 8176-8184.

Such GK, Johnston APR, Liang K, Caruso F. Synthesis and functionalization of nanoengineered materials using click chemistry. *Prog Polym Sci.* 2012; 37(7): 985-1003.

Taori V, Lu H, Reineke TM. Structure activity examination of poly(glycoamidoguanidine)s: glycopolyocations containing guanidine units for nucleic acid delivery. *Biomacromolecules.* 2011; 12(6): 2055-2063.

Xu FJ, Yang WT. Polymer vectors via controlled/living radical polymerization for gene delivery. *Prog Polym Sci.* 2011; 36(9): 1099-1131. 37.

Wang Y, Zhang R, Xu N, Du FS, Wang YL, Tan YX et al. Reduction-Degradable Linear Cationic Polymers as Gene Carriers Prepared by Cu(I)-Catalyzed Azide-Alkyne Cycloaddition. *Biomacromolecules.* 2011; 12(1): 66-74.

Wu GY, Wu CH. Receptor-mediated invitro gene transformation by a soluble DNA carrier system. *J Biol Chem.* 1987; 262(10): 4429-4432.

Wu GY, Wu CH. Receptor-mediated gene delivery and expression invivo. *J Biol Chem.* 1988; 263(29): 14621-14624.

Yao K, Tang C. Controlled Polymerization of Next-Generation Renewable Monomers and Beyond. *Macromolecules.* 2013; 46(5): 1689-1712.

Shi Y, Cao X, Gao X, The use of azide–alkyne click chemistry in recent syntheses and applications of polytriazole-based nanostructured polymers, *Nanoscale*, 2016, 8, 4864–4881.

Zhang Y, Chan HF, Leong KW. Advanced materials and processing for drug delivery: The past and the future. *Adv Drug Deliver Rev.* 2013; 65(1): 104-120.

## 8. ANEXO: ABREVIATURAS Y ACRÓNIMOS

Ac: Acetato	ICS: inmunodeficiencia combinada severa.
AcOEt: Acetato de etilo.	IR: infrarrojo.
ADA: Adenosina desaminasa.	<i>J</i> : constante de acoplamiento.
ATR: Attenuated Total Reflection.	Lit.: literatura.
Boc: <i>tert</i> -butildicarbonato.	<i>m</i> : multiplete.
<sup>t</sup> BuOH: <i>tert</i> -butanol.	<i>M<sub>w</sub></i> : peso molecular promedio en peso.
c.c.f.: cromatografía de capa fina.	<i>M<sub>n</sub></i> : peso molecular promedio en número.
CDCl <sub>3</sub> : cloroformo deuterado.	<i>M<sub>w</sub>/M<sub>n</sub></i> : polidispersidad.
CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub> : diclorometano.	MeOH: metanol.
CuSO <sub>4</sub> : sulfato de cobre.	MHz: megahertzios.
d: doblete.	MgSO <sub>4</sub> : sulfato de magnesio.
dd: doble doblete.	mmHg: milímetros de mercurio.
dt: doble triplete.	MsCl: cloruro de mesilo.
DCC: N,N'-diciclohexilcarbodiimida.	<i>m/z</i> : relación masa-carga.
DEAD: dietilazocarboxilato.	NaHCO <sub>3</sub> : bicarbonato de sodio.
DPPA: difenilfosforilazida.	NaH: hidruro de sodio.
DEPT-135: Distorsionless Enhancement by Polarization Transfer.	NaN <sub>3</sub> : azida de sodio
DMF: N,N'-dimetilformamida.	Na <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> : sulfato de sodio.
DMSO: dimetilsulfoxido.	PBT: polibutilentereftalato.
DMSO- <i>d</i> <sub>6</sub> : dimetilsulfoxido deuterado.	PEI: polietilenimina.
ESI-MS: Electrospray Ionization Mass Spectrometry.	PET: polietilentereftalato.
FTIR: Fourier Transform Infrared Spectroscopy.	p.f.: punto de fusión.
GPC: Gel Permeation Chromatography.	PGAAs: poliglicoamidoaminas.
HCl: ácido clorhídrico.	Ph <sub>3</sub> CCl: cloruro de trifenilmetilo.
H <sub>2</sub> O: Agua.	PLL: poli-L-lisina.
HPLC: High Performance Liquid Chromatography.	ppm: partes por millón.
Hz: hertzios	PT: politriazol.
	<i>p</i> -TsOH: ácido <i>p</i> -toluensulfónico
	Py: piridina.
	<sup>1</sup> H-RMN: Resonancia Magnética Nuclear de protones.

$^{13}\text{C}$ -RMN: Resonancia Magnética Nuclear  
de carbono-13.

Rto.: rendimiento.

s: singulete.

$\text{SiMe}_4$ : tetrametilsilano.

t: triplete.

TBME: *terc*-butil metil éter.

THF: tetrahidrofurano.

$\delta$ : desplazamiento químico.

$\lambda$ : longitud de onda.

$\nu_{\text{max}}$ : número máximo de onda.