



Facultad de Ciencias
Universidad Zaragoza



Departamento de
Química Orgánica
Universidad Zaragoza

Polímeros y copolímeros bloque estimulables con luz basados en la química supramolecular

Trabajo de Fin de Grado (TFG)

Grado en Química

Grupo Cristales Líquidos y Polímeros

Dpto. Química Orgánica

Universidad de Zaragoza

Curso 2016-2017

Iván Marín Miana

Directores: Dr. Luis T. Oriol Langa

Dra. Milagros Piñol Lacambra

Polímeros y copolímeros bloque estimulables con luz basados en la química supramolecular

Resumen:

Los copolímeros bloque anfifilos pueden autoensamblarse en disolventes selectivos para formar nanoagregados, los cuales tienen aplicaciones en campos como la medicina, ya que pueden utilizarse como medio para transportar fármacos en su interior. Si estos copolímeros son sensibles a algún tipo de estímulo podemos controlar la liberación de los fármacos; uno de los estímulos más interesantes es la luz ya que se puede manejar con facilidad y su acción puede estar muy localizada espacial y temporalmente. Para dotar a los polímeros de esa sensibilidad a la luz se puede optar por incorporarles unidades que isomericen o que reaccionen con la luz. En relación con la isomerización destacan los azobencenos, que debido a su fotoisomerización entre sus isómeros *E* y *Z* resultan idóneos para esta función.

En este trabajo el objetivo principal ha sido la preparación de copolímeros bloque que contienen unidades de adenina los cuales permiten generar complejos supramoleculares con azocompuestos que posean grupos timina terminales. De esta manera la funcionalización del polímero se realiza por reconocimiento molecular vía enlaces de hidrógeno. También se ha estudiado el autoensamblaje en agua para generar nanoagregados.

Para conseguir estos objetivos se han sintetizado copolímeros bloque utilizando la polimerización RAFT; estos copolímeros poseen un bloque hidrófilo de PEG y uno hidrófobo de polimetacrilato con los derivados de adenina. Los azobenceno fueron unidos por dos enlaces de hidrogeno adenina-timina para dar copolímeros bloque anfifilos supramoleculares. Todos los copolímeros fueron caracterizados adecuadamente con técnicas espectroscópicas y mediante caracterización térmica.

"Light-responsive polymers and block copolymers based on supramolecular chemistry"

Abstract:

Amphiphilic block copolymers can self-assemble in selective solvents in order to form nanoaggregates, which have applications in fields such as medicine, as they can be used as a way of carrying drugs. If these copolymers have a response to stimuli the delivery of drugs can be controlled. Light is a stimulus of particular interest because it is easy to manipulate and can be spatially and temporally controlled. To achieve light responsive polymers, photoisomerizable or photoreactive molecules are usually incorporated. In case of photoisomerization, azobenzenes are the most widely used light-responsive moiety. *E* and *Z* isomers of azobenzene can be reversibly obtained by irradiation, which make them suitable for these purposes.

Main objective of this work has been the preparation of block copolymers containing adenine units, which can generate supramolecular complexes with azocompounds having complementary thymine groups. Thus, the functionalization of the polymers is carried out by molecular recognition *via* H-bonding. The self-assembly in water to generate nanoaggregates has been also studied.

In order to get these objectives block copolymers have been synthesized using the RAFT polymerization. The block copolymers contain a hydrophilic PEG block and a hydrophobic polymethacrylate block with side adenine groups. The azobenzene were linked by hydrogen bonding adenine-thymine to achieve the supramolecular amphiphilic block copolymers. All copolymers were properly characterized by spectroscopic techniques and by thermal characterization.

Índice

	Pág.
1. Introducción	Pág.
1.1 Polímeros y copolímeros bloque anfífilos	1
1.2 Polímeros supramoleculares	2
1.3 Transportadores de fármacos	3
1.4 Nanopartículas poliméricas con respuesta a la luz	4
2. Objetivos y planteamiento	5
3. Resultados y discusión	
3.1 Monómero de metacrilato con unidad de adenina	7
3.2 Síntesis del homopolímero derivado del metacrilato con unidad adenina	9
3.3 Copolímeros bloque PMAden-b-PEG	13
3.4 Copolímeros bloque supramoleculares	15
3.5 Preparación de nanoagregados en agua	16
3.6 Estudio de las propiedades térmicas	20
4. Conclusiones	21
5. Procedimiento experimental	
5.1 Síntesis de 9-(2-hidroxietil) adenina	22
5.2 Síntesis del monómero metacrílico	22
5.3 Síntesis del homopolímero PMAden	23
5.4 Síntesis del copolímero bloque PMAden-b-PEG(2000)	23
5.5 Síntesis del copolímero bloque PMAden-b-PEG(10000)	24
5.6 Síntesis del copolímero bloque supramolecular {PMAden-b-PEG(10000)-TimAzo}	24
Anexos	
Anexo A-F: Espectros (IR, ^1H NMR, ^{13}C NMR)	25
Anexo G: Caracterización térmica (TGA, DTGA, DSC)	33
Anexo H: Técnicas e instrumentos	36

1. Introducción

1.1 Polímeros y copolímeros bloque anfífilos

Los polímeros son moléculas de alta masa molecular (también llamadas macromoléculas) cuya estructura química está formada por unidades pequeñas que se repiten y que proceden de un monómero precursor. Los polímeros se sintetizan a partir de una reacción de polimerización y variando las condiciones podemos obtener polímeros lineales, ramificados, entrecruzados, hiperramificados...

Los copolímeros son macromoléculas formadas por varias unidades repetitivas, es decir, preparadas a partir de dos o más monómeros. Según cómo se dispongan las unidades repetitivas tenemos diversos tipos de copolímeros. Para el caso de copolímeros con dos unidades diferentes tenemos: copolímeros bloque, de injerto, estadístico y alternante (Figura 1.1). De todos ellos son especialmente interesantes los copolímeros bloque, en particular si se buscan aplicaciones en nanociencia, y están formados por dos cadenas poliméricas unidas entre sí. Si se unen entre sí un bloque hidrófilo y otro hidrófobo el copolímero resultante tendrá carácter anfífilo y como consecuencia será capaz de segregar en agua (como disolvente selectivo) y dar distintas estructuras micelares. Esta propiedad ha sido usada recientemente por la biomedicina y la nanotecnología para preparar agentes terapéuticos basados en copolímeros bloque que se autoensamblan en agua encapsulando fármacos que pueden ser posteriormente liberados. Si a este nanotransportador polimérico se le dota de respuesta a un estímulo (pH, temperatura, luz, redox, etc.) se puede controlar la liberación del fármaco en dianas terapéuticas concretas, como puede ser un tumor.

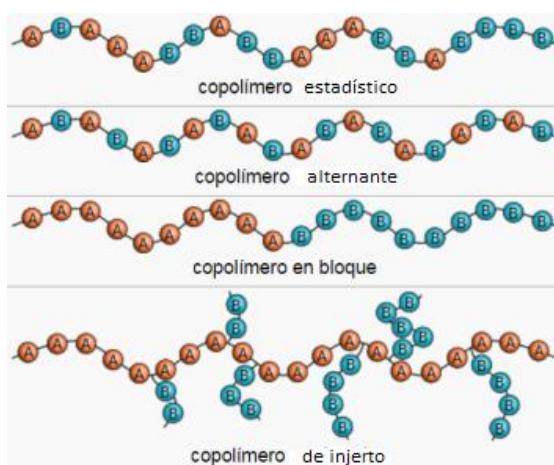


Figura 1.1 Diferentes tipos de copolímeros con dos unidades repetitivas distintas.

Los copolímeros bloque anfífilos permiten formar diferentes estructuras en función de la proporción de cada bloque (hidrófilo/hidrófobo) de manera que se pueden obtener micelas esféricas, cilíndricas, lamelares, vesículas,... (Figura 1.2) Las más útiles son las

micelas esféricas y las vesículas. En estas últimas se pueden encapsular tanto moléculas hidrófobas (en la membrana) como hidrófilas en el interior de la vesícula.

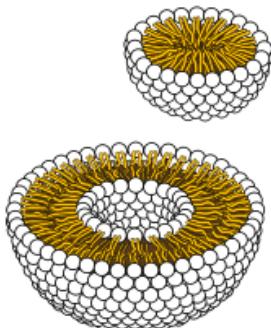


Figura 1.2 Representación de una vesícula (abajo) y micela (arriba)

En cuanto a los métodos de preparación de copolímeros bloque hay diversas posibilidades. Una de ellas es la polimerización secuencial de ambos monómeros mediante un método de polimerización que permita obtener polímeros vivos¹. Se entiende como tales a polímeros que tienen un extremo (o los dos) activo para que pueda seguir creciendo cuando se introduce el segundo monómero. Alternativamente se puede preparar previamente un polímero que sirva de iniciador (lo que se denomina un macroiniciador) para la polimerización de un segundo monómero. La otra posibilidad es preparar ambos bloques por separado y unirlos. Para ello deben tener en los extremos grupos que reaccionen entre sí.

1.2 Polímeros supramoleculares

La Química Supramolecular consiste en la preparación de estructuras moleculares definidas a partir de interacciones no covalentes, estas interacciones pueden ser de tipo iónico, enlace de hidrógeno, coordinación con un metal²... Los principios de la Química Supramolecular pueden ser aplicados a la preparación de polímeros supramoleculares de muy diversas maneras. Por ejemplo, a la síntesis de copolímeros bloque de cadena donde uno de los bloques puede ser modificado por interacciones no covalentes para dar un copolímero con propiedades diferenciadas del de partida (Figura 1.3.).

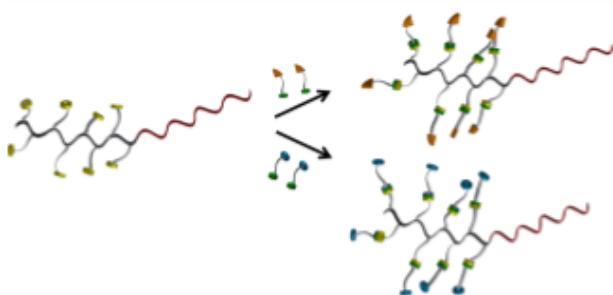


Figura 1.3. Modificación no covalente lateral de un copolímero bloque.

¹A. Blanazs, S. P. Armes, A. J. Ryan *Macromol. Rapid Commun.* **2009**, 30, 267–277

²J. Ding, L. Chen, C. Xiao *Chem. Commun.* **2014**, 50, 11274-11290

Las interacciones por enlace de hidrógeno son las más usadas en la preparación de polímeros supramoleculares debido a su relativa estabilidad (aprox. 20kJ/mol) frente a otras interacciones no covalentes, su reversibilidad y alta direccionalidad. Son muchos los grupos de investigación que se han dedicado a modificar polímeros mediante el enlace de hidrógeno que se produce entre derivados de piridina y de ácido benzoico o entre bases nitrogenadas complementarias para la funcionalización de cadenas laterales de polímeros, demostrando su uso en aplicaciones tales como cristales líquidos o nanomateriales.

La fortaleza de la unión no covalente puede ser ajustada variando la temperatura, el pH, el disolvente, o el número de enlaces de hidrógeno entre las estructuras. Además estos enlaces dirigen el autoensamblado de los copolímeros y estabiliza el núcleo de las micelas, lo que mejora su potencial como nanotransportadores.

1.3 Transportadores de fármacos

Como se ha comentado, los copolímeros bloque anfífiios presentan la propiedad de microsegregación en un disolvente selectivo para uno de los bloques; siendo agua el de mayor interés para aplicaciones de todo tipo. Las cadenas hidrófobas interactúan con sus cadenas vecinas para disminuir el contacto con el agua desfavorecido desde el punto de vista entálpico. Por el contrario, las partes hidrófilas se encuentran solvatadas por moléculas de agua. Este ensamblaje tiene interés en el transporte y liberación de fármacos.

La morfología de estos agregados puede ser modificada en función de la masa molecular relativa de cada una de las partes que conforma el copolímero. Por ejemplo, en un trabajo descrito por el grupo de Cristales Líquidos y Polímeros sobre copolímeros bloque dendrítico-lineal se obtenían tanto micelas cilíndricas o nanofibras, micelas lamelares, tubulares o vesículas, simplemente variando la proporción hidrófoba que compone el copolímero³, tal y como se muestra en la Figura 1.4.

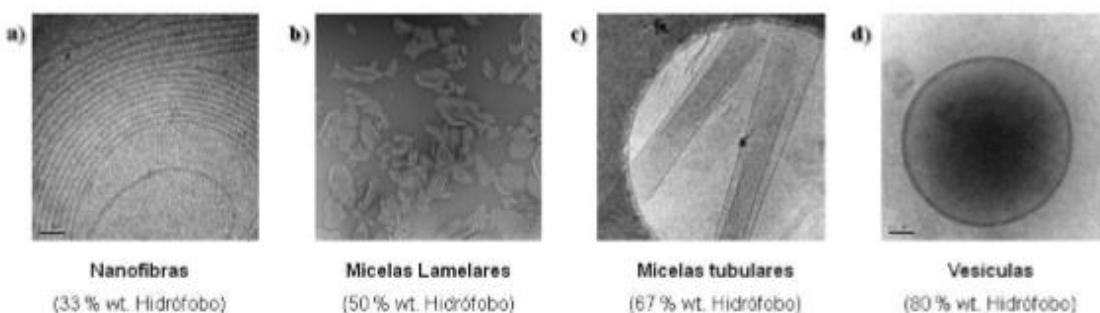


Figura 1.4. Diferentes morfologías de nanoagregados obtenidos a partir de copolímeros bloque dendrítico-lineal (ref.3)

Estos agregados puedan tener aplicaciones biomédicas y para ello no deben ser citotóxicos. Existen una amplia cantidad de polímeros biocompatibles, como el PEG el

³ J. del Barrio, L. Oriol, C. Sánchez, J. L. Serrano J. Am. Chem. Soc. **2010**, 132, 3762–3769

cual es hidrófilo y proporciona un tiempo de circulación elevado (evita que sea reconocido por el sistema reticuloendotelial), lo que favorece que los nanotransportadores alcancen su objetivo.

En el grupo de investigación de Cristales Líquidos y Polímeros se ha descrito un copolímero bloque que contiene PEG y un bloque de un polimetacrilato con unidades de 2,6-diacilpiridina, que es un análogo de la citosina (es decir, reconoce timina o uracilo). Este copolímero tiene una fuerte tendencia a dar micelas esféricas o nanopartículas poliméricas que responden al pH, como se observa en la Figura 1.5. Además, estas micelas se han cargado con el fármaco camptotecina, comprobando que se produce la liberación del fármaco y tienen actividad como antiviral hepático⁴.

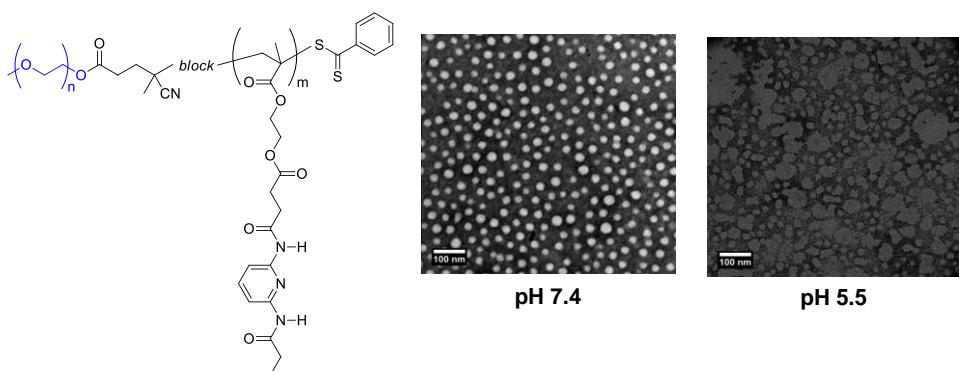


Figura 1.5. Estructura del copolímero bloque basado en 2,6-diacilaminopiridina y nanoagregados observados al TEM a diferente pH (ref. 4)

1.4 Nanoparticulas poliméricas con respuesta a la luz

Si los ensamblados o agregados de copolímeros son sensibles a un estímulo, se puede controlar la liberación de los fármacos que contienen, aplicando una variación de dicho estímulo. Hay varias posibilidades (como es el caso del pH en el ejemplo anterior, la temperatura, propiedades redox, entre otras), pero la luz ofrece algunas ventajas como es el hecho de que actúa en un lugar y tiempo definido, y que es un estímulo externo que se puede controlar fácilmente (intensidad, longitud de onda, tiempo y zona de exposición, etc.) Al actuar dicho estímulo sobre la nanopartícula se produce su deformación o la ruptura de la misma.

Para proveer al copolímero de dicha fotosensibilidad, los compuestos más utilizados son los derivados de azobencenos. El azobenceno es una molécula orgánica formada por dos anillos de benceno unidos por un enlace azoico (N=N); esta molécula presenta dos isómeros: el isómero trans (E) y el isómero cis (Z) de ellos el trans es el isómero estable termodinámicamente. Al irradiar con luz UV se produce la isomerización del isómero trans al cis, el cual pierde planaridad se hace más polar y por tanto más hidrófilo. El cis revierte de nuevo al trans, ya sea vía fotoquímica o térmica dada su mayor estabilidad (Figura 1.6).

⁴ B. Wang, X.-J. Shen, J-L Wen and R.-Cang Sun *RSC Adv.*, **2016**, *6*, 24066-24080

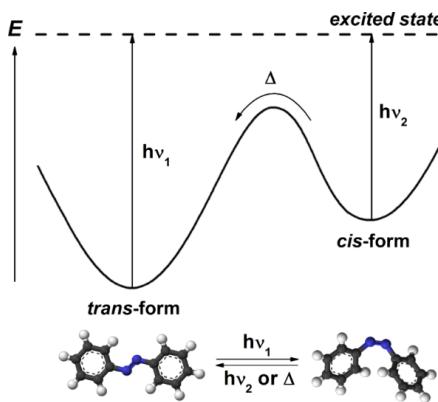


Figura 1.6. Isomerización cis-trans del azobenceno

Los copolímeros bloque de la Figura 1.5, con unidades de 2,6-diacilaminopiridina, fueron funcionalizados con azobencenos que incorporaban timina para comprobar si se producía el reconocimiento molecular 2,6-diacilaminopiridina-timina mediante triple enlace de hidrógeno. Efectivamente este reconocimiento era selectivo y según la masa molecular se observó que después de funcionalizarlos, se autoensamblaban tanto en micelas como en vesículas (hay que destacar que sin azobenceno, el copolímero bloque siempre generaba micelas esféricas) y presentaban respuesta a la luz, lo que permite su uso como nanotransportador estimulable con luz, tal y como muestra la Figura 1.7.⁵

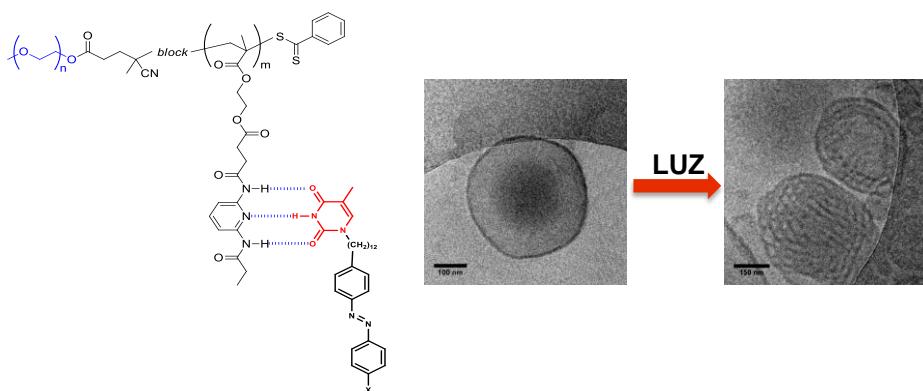


Figura 1.7 Copolímero bloque supramolecular formado por reconocimiento molecular 2,6-diacilaminopurina-timina. Vesícula antes y después de irradiar con luz (imágenes de cryo-TEM).

2. Objetivos y planteamiento

El objetivo principal de este trabajo es la preparación de polímeros y copolímeros bloque con cadenas laterales que contengan adenina para poder utilizarlas en la preparación de complejos supramoleculares, y su comparativa con los análogos derivados de 2,6-diacilaminopurina previamente preparados. Estos complejos se formarán por enlace de hidrógeno y contendrán unidades azobenceno para aportar respuesta a la luz a los materiales preparados. Para el cumplimiento de estos objetivos se siguieron las siguientes tareas específicas:

⁵ A. Concellón, E. Blasco, A. Martínez-Felipe C. Martínez, J. Sics, T.A. Ezquerra, A. Nogales, M. Piñol, L. Oriol *Macromolecules* **2016**, 49, 7825–7836

- Síntesis del monómero metacrílico derivado de adenina de la Figura 2.1 que permita obtener polímeros hidrófobos y copolímeros bloque por apertura de doble enlace. La presencia de adenina deberá permitir ensamblar complejos supramoleculares con enlace de hidrógeno por reconocimiento de timina.

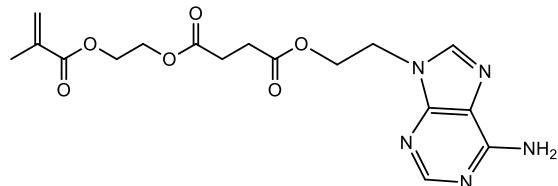


Figura 2.1 Monómero con doble enlace y adenina

- Preparación del homopolímero PMAden para comprobar que es factible la polimerización RAFT del monómero antes de preparar copolímeros bloque (Figura 2.2).

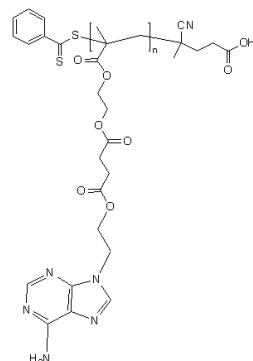


Figura 2.2 Homopolímero PMAden

- Preparación de copolímeros bloque anfifilos usando un agente de transferencia de cadena que contiene PEG (CTA-PEG) para polimerizar por RAFT el metacrilato con adenina. Se utilizarán dos agentes CTA-PEG con PEG de masas moleculares promedio diferentes: 10000 y de 2000 g/mol (Figura 2.3).

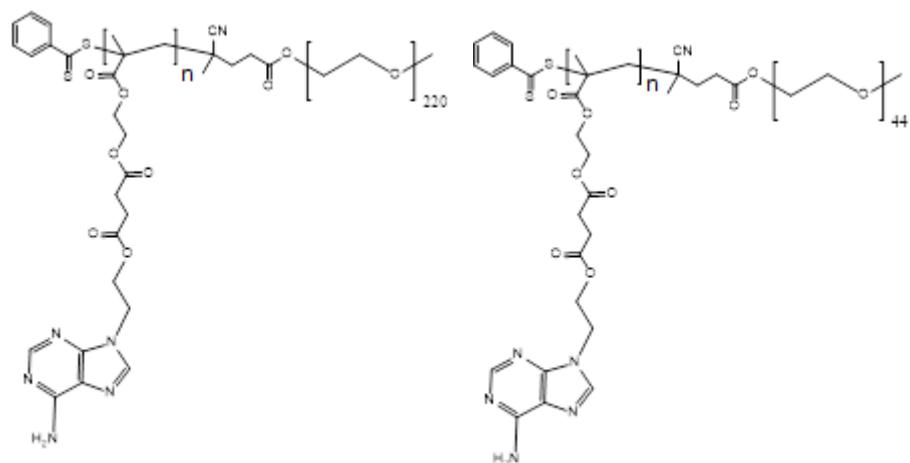


Figura 2.3 Copolímero bloque PMAden-*b*-PEG(10000)(izquierda) y PMAden-*b*-PEG(2000)(derecha)

- Formación de complejos supramoleculares: los copolímeros bloque anfifílos tienen como objetivo final su unión a la unidad de azobenceno mediante enlaces de hidrógeno. El compuesto de azobenceno fue sintetizado previamente y le llamaremos TimAzo.

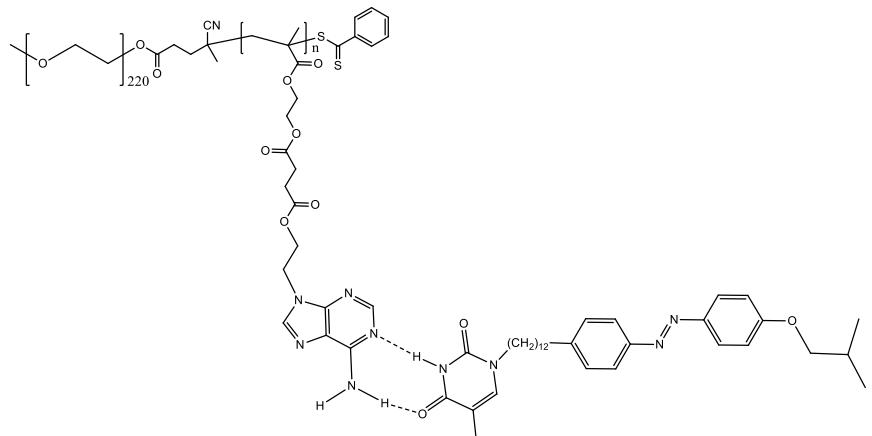


Figura 2.4 PMADen-*b*-PEG(10000)-TimAZO

- Preparación y caracterización de agregados en agua. El último de los objetivos de este Trabajo de Fin de Grado es comprobar si se produce la formación de micelas o vesículas poliméricas al dispersar en fase acuosa los copolímeros bloque, tanto iniciales como después de incorporar los derivados de azobenceno. Se determinará su formación por microscopía electrónica de trasmisión (TEM).

3. Resultados y discusión

A continuación se va a discutir algunos de los pasos relacionados con la síntesis del monómero, polímeros, copolímeros bloque y complejos supramoleculares además de comentar los aspectos estructurales más importantes de los productos obtenidos.

3.1 Monómero de metacrilato con unidad de adenina

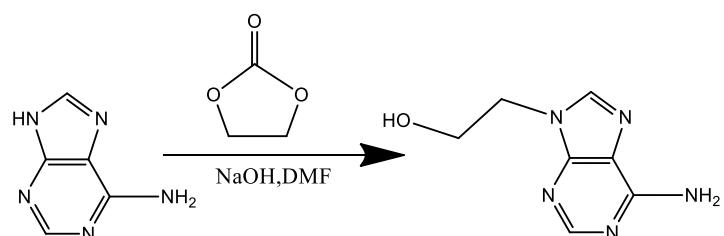


Figura 3.1. Funcionalización de adenina

Se partió de adenina, la cual se funcionalizó con carbonato de etileno en medio básico⁶, utilizando DMF recién destilada como disolvente según se muestra en la Figura 3.1. La

⁶ J. C. Kim, J. Jung, Y. Rho, M. Kim *Biomacromolecules* **2011**, *12*, 2822-2833

reacción se sigue por cromatografía de capa fina, observándose dos productos de reacción: el compuesto objetivo y el sustituido en la amina primaria. El compuesto que nos interesa se purifica finalmente por recristalización en etanol.

La caracterización del producto se realizó con las técnicas espectroscópicas habituales: IR, ¹H-RMN y ¹³C-RMN (Ver apartado A.1 de Anexos); además se realizó un análisis elemental para verificar su composición. En el espectro IR se observa la banda característica de los grupos OH, banda ancha en torno a 3300 cm⁻¹ y aparecen dos picos correspondientes a la amina primaria. La presencia de estos dos grupos nos permite afirmar que se obtiene el producto buscado.

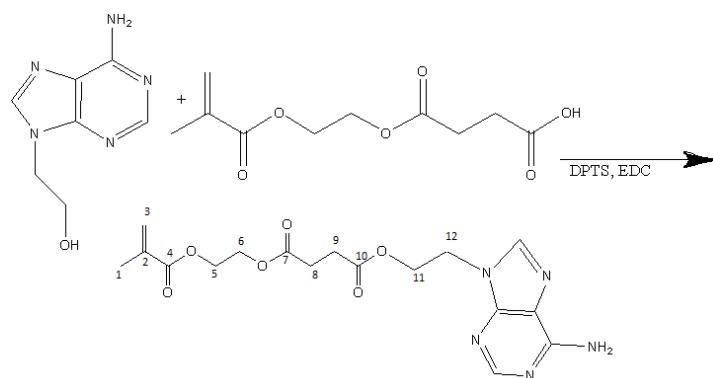


Figura 3.2 Síntesis del monómero MADen

Para la síntesis del monómero se llevó a cabo una reacción de esterificación de Steglich⁷ tal y como se muestra en la Figura 3.2 a partir de 9-(2-hidroxietil) adenina y succinato de mono-2-metacriloxietilo comercial, en DMF recién destilada. Se realizó cromatografía de capa fina a la mezcla de la reacción transcurridas 24 horas y se observaron dos productos. Tras extraer en acetato de etilo se realizó un RMN en el cual la señal correspondiente a los H de los carbonos numerados en la Figura 3.2 como 5, 6, 8 y 9, eran superiores a lo esperado. Esto llevó a pensar que había mezclas del producto deseado y al resultante de la amidación de la adenina, lo que se comprobó por espectrometría de masas (Figura 3.3). La mezcla de productos se separó por cromatografía en columna.

⁷ J. C. Kim, J. Jung, Y. Rho, M. Kim Biomacromolecules 2011, 12, 2822-2833

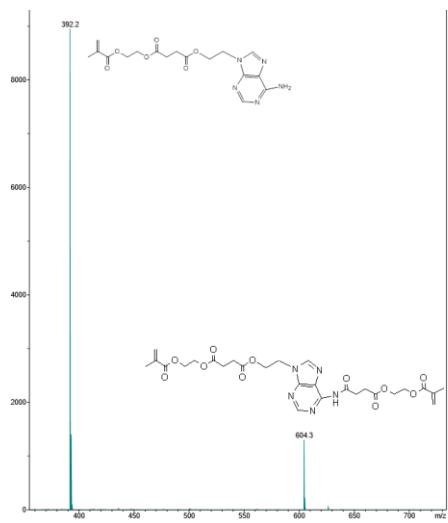


Figura 3.3. Espectro de masas de la mezcla de reacción de obtención del monómero MAden

En este tipo de reacciones es necesario activar el ácido carboxílico y para ello se utilizan carbodiimidas, existen varias disponibles comercialmente, en este caso se utilizó EDC [1-ethyl-3-(3-dimetilaminopropil)carbodiimida].

En el proceso de obtención del monómero se tuvieron las precauciones adecuadas para evitar que el monómero no polimerice involuntariamente; para ello se protegió de la luz y se destiló a vacío en el rotavapor sin calentar. Además se añade a la mezcla de reacción un inhibidor radicalario como es el 2,2-diterc-butil-4-metilfenol, que desactiva los radicales que pudieran dar lugar a una polimerización radicalaria involuntaria.

La caracterización del producto y del intermedio se llevó a cabo por las técnicas espectroscópicas habituales: IR, ¹H-RMN, ¹³C-RMN y análisis elemental (Ver apartado B.2 de Anexos) Obteniendo el producto esperado, en IR podemos ver la señal de la amina primaria, las aromáticas y la señal del doble enlace. Por H-RMN comprobamos que las integrales de todas las señales se corresponden con la de nuestro producto.

3.2 Síntesis del homopolímero derivado del metacrilato con unidad adenina

La síntesis del homopolímero y de los copolímeros bloque fue realizada mediante polimerización RAFT: polimerización radicalaria, por adición, fragmentación y transferencia de cadena (*Reversible Addition–Fragmentation chain Transfer*, RAFT). La polimerización RAFT es una polimerización radicalaria controlada, descrita por primera vez por el grupo de Rizzardo, Moad y Thang⁸, que puede ser aplicada a una amplia variedad de monómeros funcionales diferentes. Está basada en la transferencia de la cadena en crecimiento a derivados azufrados, generalmente ditioésteres, de tal manera que la concentración de macrorradicales es baja en todo momento, lo que a su vez minimiza la terminación de cadena.

⁸ G. Moad, E. Rizzardo, S. H. Thang, *Aust. J. Chem.* **2005**, 58, 379-410

Como sucede en una polimerización radicalaria tradicional, la iniciación comienza con un peróxido o un compuesto azoico alifático (como es el AIBN) los cuales poseen enlaces lábiles que se rompen homolíticamente al calentar. Además en este tipo de polimerización es necesario un agente de transferencia de cadena (CTA) que contenga grupos xantato, ditioester, ditiocarbomato, etc. La elección del CTA viene marcada por el tipo de monómero que vayamos a polimerizar, ya que el avance de forma controlada del proceso de polimerización, y por tanto la dispersidad y masa molecular, dependen del CTA elegido. De hecho, ya hay una buena oferta de CTA comerciales con una recomendación de elección en función del tipo de polímero⁹.

La iniciación y la terminación en este tipo de polimerización suceden de igual forma que en una radicalaria tradicional. De hecho, en cuanto a la iniciación se utiliza un iniciador térmico convencional, se forma la especie activa del iniciador y tras ello se forma un radical de propagación $P_n \cdot$ que reacciona con el agente de transferencia de cadena y produce la ruptura del enlace R-X (X generalmente es un átomo de S). Tras este paso obtenemos un polímero vivo en el sentido de que puede seguir reaccionando por el extremo reactivo, a pesar de que este desactivado. También obtenemos un nuevo radical, ($R \cdot$), que va a ser el encargado de continuar con la polimerización al reaccionar con el monómero produciendo de nuevo radicales de propagación $P_m \cdot$. A continuación se establece un rápido equilibrio entre los dos radicales de propagación y el polímero unido al CTA. Este equilibrio conduce a polímeros con muy poca polidispersidad. La etapa de terminación no se puede evitar pero está minimizada porque hay baja concentración de macrorradicales en el medio. Al finalizar la polimerización, muchas cadenas todavía conservan el grupo CTA como grupo terminal pudiendo aislarse como compuestos estables. Estas macromoléculas con un CTA terminal se pueden emplear como agentes de transferencia en posteriores procesos, lo que los convierte en un reactivo perfecto para obtener copolímeros bloque por polimerización de otros monómeros. En este caso se denominan macro-CTA. Un esquema del proceso RAFT se muestra en la Figura 3.4.

⁹ <http://www.sigmaaldrich.com/technical-documents/articles/materials-science/polymer-science/raft-polymerization.html> (consultado 22 de Junio 2017)

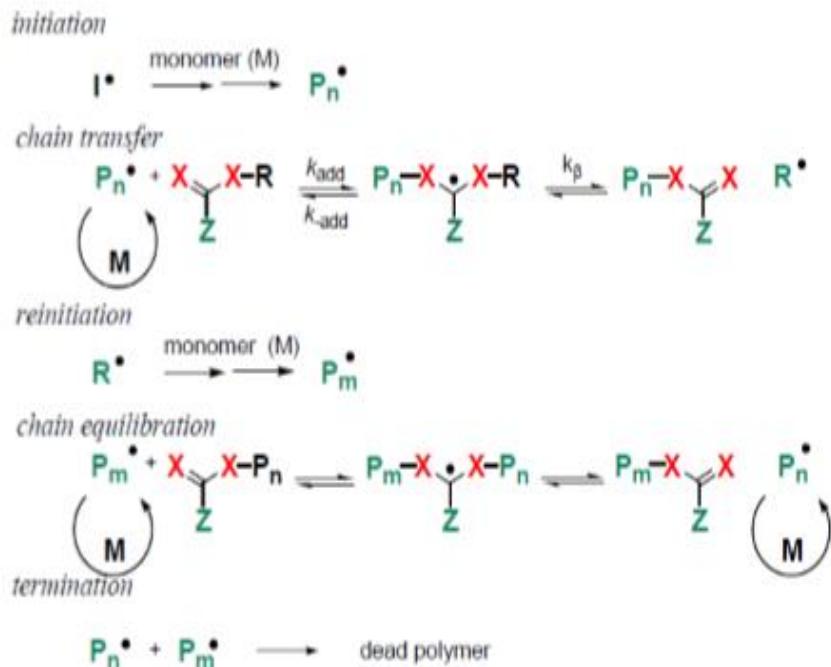


Figura 3.4. Esquema de la polimerización RAFT (ref.8)

La reacción que se llevó a cabo para preparar el homopolímero fue la que se muestra en la Figura 3.5.

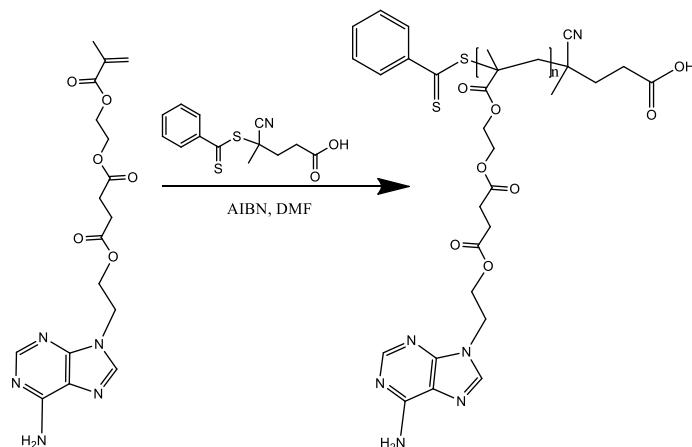


Figura 3.5 Polímero PMAden preparado por RAFT

Como iniciador radicalario se utilizó AIBN y como CTA el ácido 4-(feniltiocarboniltio)-4-ciano propanoico. Si la polimerización transcurre de forma controlada la masa molecular promedio que se quiere obtener se puede calcular mediante la siguiente fórmula:

$$M_n(\text{teórica}) = \left(\frac{[M]}{[CTA]} * MM_m * \text{conversión} \right) + MM_{CTA}$$

Siendo $[M]$ la concentración de monómero inicial, $[CTA]$ la concentración inicial del agente de transferencia de cadena, MM_m la masa molecular de la unidad repetitiva derivada del monómero y MM_{CTA} la masa molecular del CTA.

Se planteó como objetivo la preparación de un polímero con una masa molecular promedio teórica de 20000, para una conversión del 100%. Para la reacción de polimerización se utilizó DMF recién destilada como disolvente. La reacción tuvo lugar en condiciones controladas, atmósfera inerte y 80°C, y se mantuvo durante 48 horas. El proceso de purificación del homopolímero se realizó por precipitación del crudo de reacción sobre metanol frío, el precipitado se recogió mediante filtración con succión.

En este tipo de polímeros sintéticos, tras la polimerización se obtiene una distribución de cadenas poliméricas que se diferencian en su masa molecular. Por ello es necesario obtener los valores promedio de dicha distribución y medir su anchura, lo que nos hace tener una idea de su dispersidad, es decir, de la homogeneidad de las cadenas. Para definir la dispersidad podemos hacer uso de dos expresiones: la masa molecular promedio en masa o peso (M_w) y en número (M_n):

$$M_n = \frac{\sum n_i M_i}{\sum n_i} \quad M_w = \frac{\sum n_i M_i^2}{\sum n_i M_i} = \frac{\sum m_i M_i}{\sum m_i}$$

Donde n_i es el número de moles de macromoléculas de masa molecular M_i , y m_i la masa de dichas macromoléculas, siendo $m_i = M_i * n_i$. Cuanto más ancha sea la distribución de masas moleculares de las cadenas poliméricas, mayor será la diferencia entre los distintos promedios. La dispersidad es igual al cociente entre M_w/M_n .

Tras la reacción se realizó la caracterización por $^1\text{H-RMN}$ donde no se pudo comprobar el grado de polimerización ya que no se observaron las señales del CTA. Sin embargo en el $^1\text{H-RMN}$ (Figura 3.6) desaparecen las señales correspondientes al doble enlace del monómero (que suelen aparecer en torno a 6 ppm).

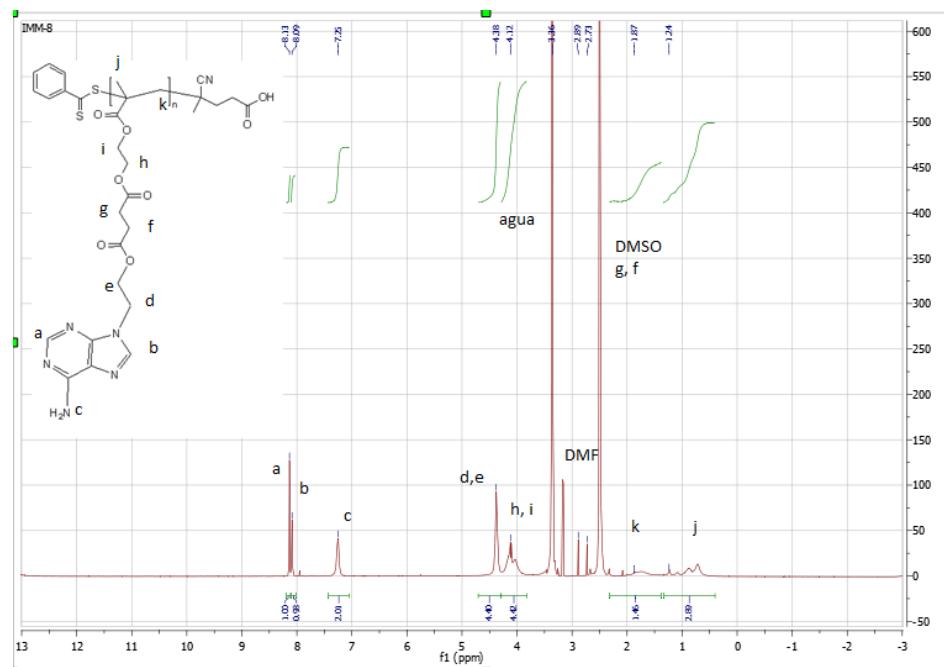


Figura 3.6. $^1\text{H-RMN}$ de PMAden

3.3 Copolímeros bloque PMAden-b-PEG

Se propuso la síntesis de dos copolímeros bloque a partir del monómero metacrílico con adenina previamente sintetizado y dos macroCTA-PEG: uno que contenía un PEG de $M_n = 10000$ y otro con PEG de $M_n = 2000$; ambos macroCTA-PEG son comerciales. El esquema de este proceso se muestra en la Figura 3.7.

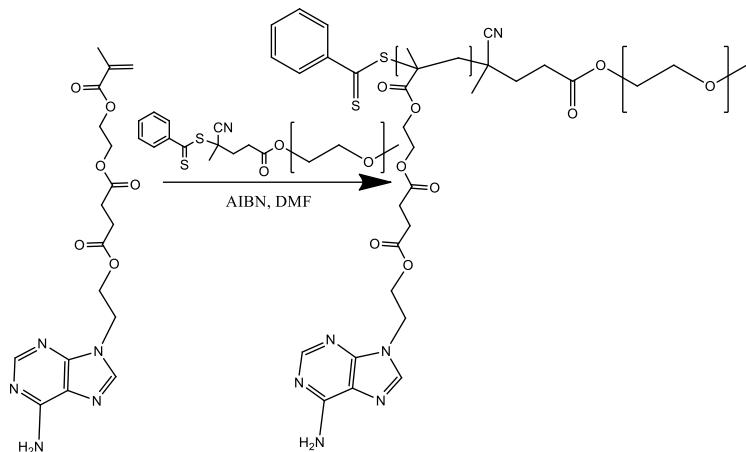


Figura 3.7 Preparación por RAFT de los copolímeros bloque

En ambos casos se siguió el mismo procedimiento experimental por disolución de los sólidos en DMF a 80°C y polimerización en atmósfera inerte obtenida mediante ciclos sucesivos de vacío-argón. El polímero se purifica por precipitación y lavado con éter frío.

Tanto el copolímero PMAden-b-PEG(2000) como el PMAden-b-PEG(10000) tenían como fin último la modificación supramolecular para conseguir una relación hidrófilo/hidrófobo del 20/80 (w/w) aproximadamente. De acuerdo a este propósito se hicieron los cálculos para ajustar concentraciones de reactivos, CTAs, etc. en el proceso de polimerización RAFT. La parte hidrófila de nuestro complejo viene dada por el PEG y la parte hidrófoba en el complejo supramolecular final por el bloque PMAden-Tim-AZO. En el caso del PMAden-b-PEG(2000) la m (*hidrófila*) = 2000 g/mol (corresponde a un grado de polimerización de 45) y para cumplir la relación marcada la m (*hidrófoba*) = 8000 g/mol. Dado que M_m (*hidrófoba*) = 883 g/mol (azobenceno + unidad repetitiva metacrilato) esto supone que el grado de polimerización objetivo en la RAFT es $n_{\text{hidrófoba}} = \frac{8000}{883.76} = 9$. Cálculos análogos se pueden hacer para el caso del copolímero a partir del PEG de masa 10000 y se obtiene un grado de polimerización objetivo de 45.

Una vez obtenidos los copolímeros bloque se procedió a su correcta caracterización así como a la obtención del grado de polimerización y a la masa molecular promedio. La caracterización básica fue realizada con las técnicas habituales IR y RMN. La distribución de masas moleculares fueron determinadas mediante cromatografía de permeación en gel (GPC) con un detector de Light Scattering evaporativo utilizando estándares de PMMA.

Observando la señal del GPC que se obtienen varios picos que pueden indicar polidispersidad o muestras de diversos tamaños. No obstante, este resultado no es definitivo dada la tendencia que tienen a agregar este tipo de materiales, siendo preciso un estudio a diferentes concentraciones, así como condiciones de elución con probable adición de LiBr para evitar los agregados.

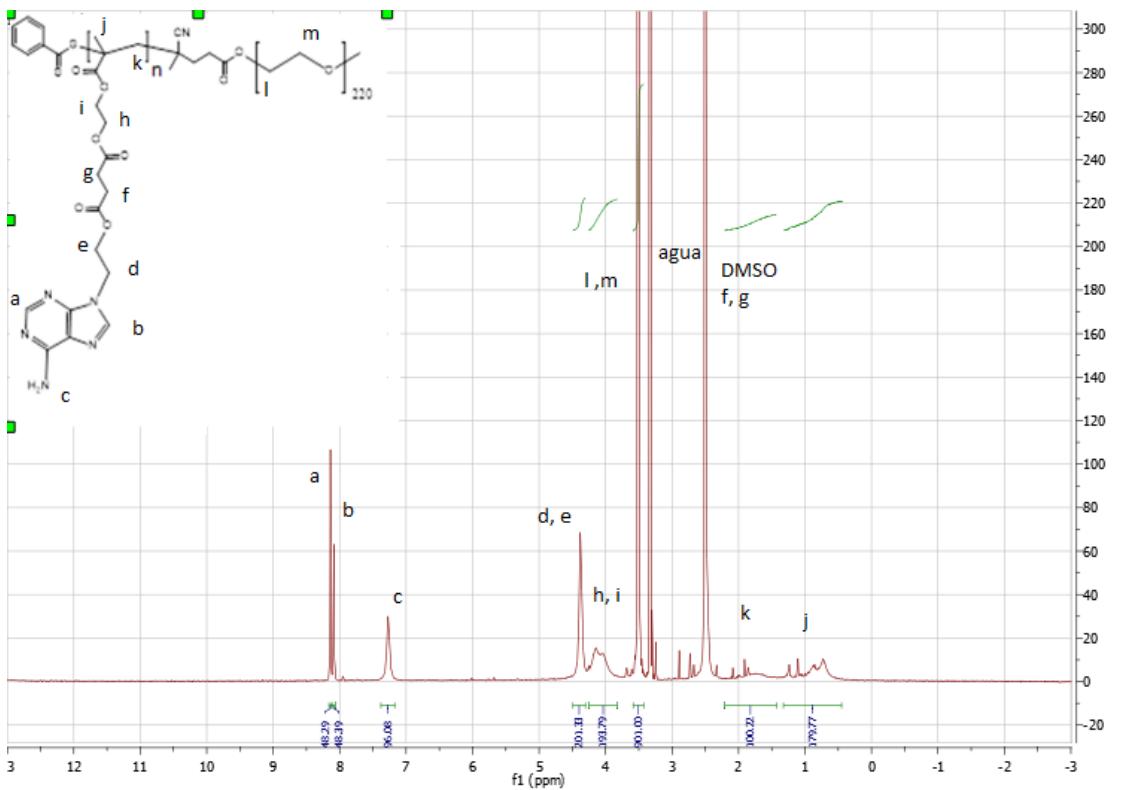


Figura 3.8. ^1H -RMN PMAden-*b*-PEG(10000)

Como se ha comentado en el caso del PMAden-*b*-PEG(10000) se había marcado como objetivo un grado de polimerización de 45. Como la masa del PEG(10000) es conocida, sabemos su grado de polimerización, y por lo tanto a partir de la integración de la señal del PEG y conociendo la relación con señales (su integración relativa) del bloque hidrófobo se puede calcular el grado de polimerización promedio de este bloque PMAden. Como el grado de polimerización promedio del PEG es 227, esto supondría que su integración teórica correspondería a $227 * 4 = 908$ protones. Utilizando esta integral (H_l y H_m Figura 3.8) podemos calcular el número de unidades repetitivas del otro bloque (H_j y H_k Figura 3.8) ya que están relacionados entre sí, de este modo obtengo un grado de polimerización de 48. De esta forma es posible calcular la masa molecular total del copolímero bloques, multiplicando el grado de polimerización de cada bloque por la masa molecular del bloque correspondiente obtenemos una masa de 28974 g/mol. También se realizó un ^1H -RMN DOSY para comprobar que la señal H_f y H_g , Figura 3.8, se encontraba solapada con la señal del DMSO. (Ver Anexos Figura E.2)

Para el PMAden-*b*-PEG(2000) se hicieron cálculos análogos y el grado de polimerización promedio obtenido para la parte hidrófoba fue de 10 y la masa molecular 6164 g/mol.

3.4 Copolímero bloque supramoleculares

Una vez obtenidos los copolímeros bloque anfifilos PMAden-b-PEG(2000) y PMAden-b-PEG(10000), el siguiente paso es la preparación del complejo supramolecular, utilizando un compuesto un azobenceno previamente sintetizado por el grupo que lleva un anillo de timina al final de una cadena dodecametilénica que la une al azobenceno. La timina es la que debe facilitar el anclaje supramolecular al bloque hidrófobo. Para ello se disuelven los dos componentes (copolímero bloque+azobenceno) en cantidades estequiométricas, en un disolvente común inicial, THF, y se deja evaporar de forma progresiva el disolvente por agitación. Se seleccionó PMAden-b-PEG(10000) como modelo para la preparación de copolímeros bloque supramoleculares (fue el primero que se sintetizó y con él se avanzó en esta línea).

La mezcla del copolímero bloque anfifilo con el azobenceno conduce a la formación de un complejo supramolecular, que como se comentó en la introducción, puede ser estimulado con luz debido a las unidades azobenceno. La interacción supramolecular entre ambas unidades se produce gracias al par adenina-timina, ampliamente descrito dada su importancia biológica.

La caracterización se llevó a cabo mediante IR y ^1H -RMN. En el caso del RMN (realizado en DMSO deuterado), Figura 3.9, se observa cómo se desplaza a campos más altos la señal del protón de la timina como consecuencia de la formación de enlaces de hidrógeno con adenina, dado que se encuentran más desapantallado, como consecuencia de esta interacción supramolecular.

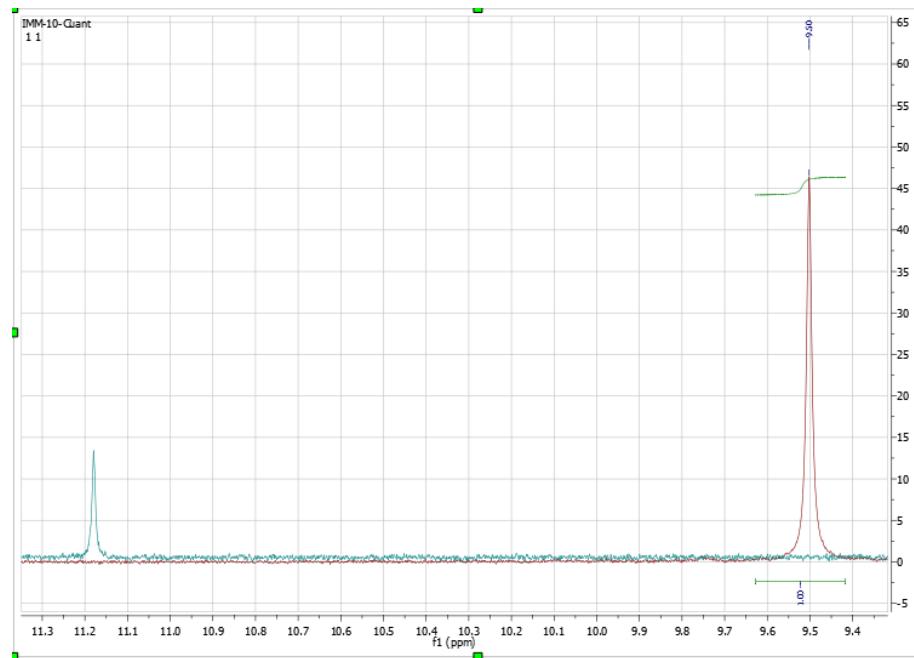


Figura 3.9. Señal del protón de la timina implicado en el enlace de hidrógeno. En rojo: espectro del compuesto TimAzo (antes de acomplejar); en azul: espectro de PMAden-b-PEG(10000)-TimAzo, después de acomplejar

En cuanto al IR comparativo entre el PMAden-b-PEG(10000) y PMAden-b-PEG(10000)-TimAzo, Figura 3.10, podemos ver que la bandas correspondientes a la tensión N-H con una longitud de onda 3420 y 3182 cm^{-1} se desplazan a frecuencias

menores. Esto es debido a la debilitación del enlace N-H al compartir ese H por enlace supramolecular con la timina del azobenceno.

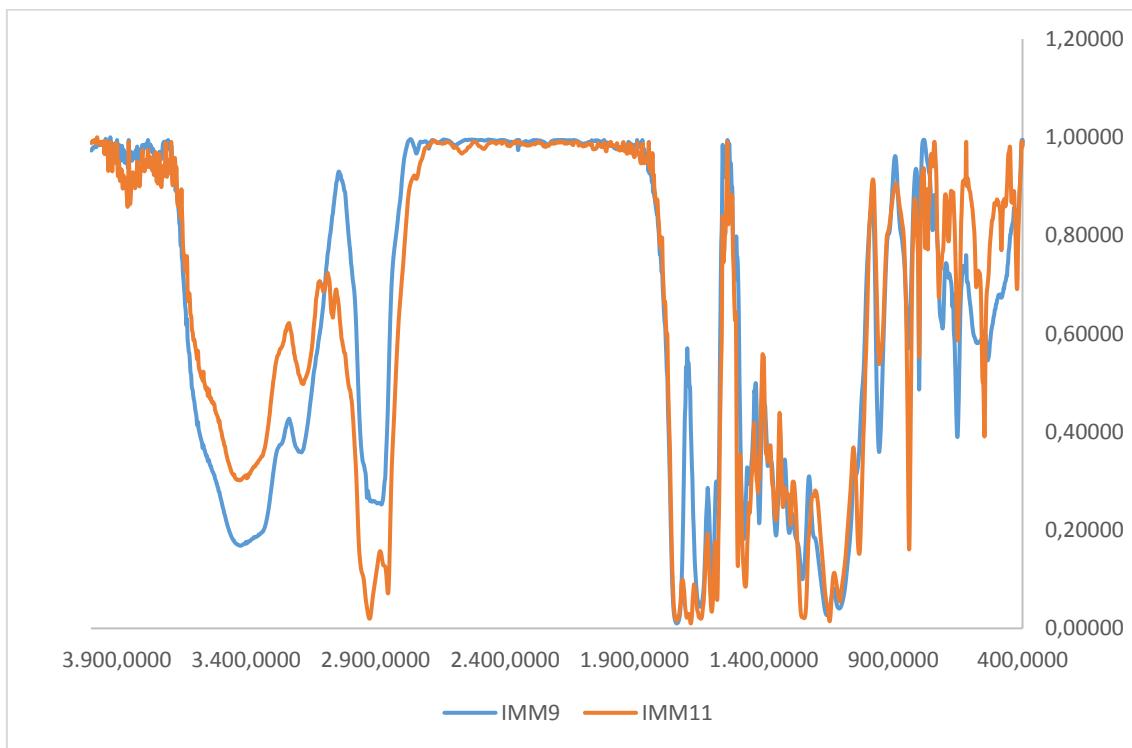


Figura 3.10 Comparación entre los IR de PMAden-PEG(10000)(azul) y PMAden-PEG(10000)-TimAzo(naranja)

3.5 Preparación de nanoagregados en agua

Para la preparación de los agregados en fase acuosa se hizo uso de la técnica de nanoprecipitación o cosolventes, en la que el copolímero bloque se disuelve en un disolvente orgánico miscible con agua, y se va añadiendo agua hasta observar turbidez, lo que nos indica la presencia de esta agregación. La preparación de los agregados se realizó de la siguiente manera: se disolvió el copolímero en THF y se fue añadiendo alícuotas de agua mili Q a la disolución, a la vez que se iba midiendo la absorbancia en un espectrofotómetro UV-visible a una longitud de onda de 650 nm. Cuando se produce la agregación aumenta aparentemente la absorbancia como consecuencia del aumento de la turbidez de la muestra y, por tanto, de la dispersión de la luz. Consecuentemente llega menos luz al detector, lo que justifica ese aparente aumento de absorbancia. En las figuras 3.10-12 se observa cómo se produce esta modificación. Una vez estabilizados los agregados, la disolución sobrenadante se utilizó para realizar los estudios de microscopía electrónica de transmisión (TEM). Los estudios se realizaron tanto para los copolímeros bloque iniciales. En el caso del copolímero supramolecular PMAden-b-PEG(10000)-TimAzo, hay que destacar que se formó precipitado del azobenceno por lo que no fue posible la preparación de muestra para el TEM (por esta razón no se estudió el análogo con PEG(2000)).

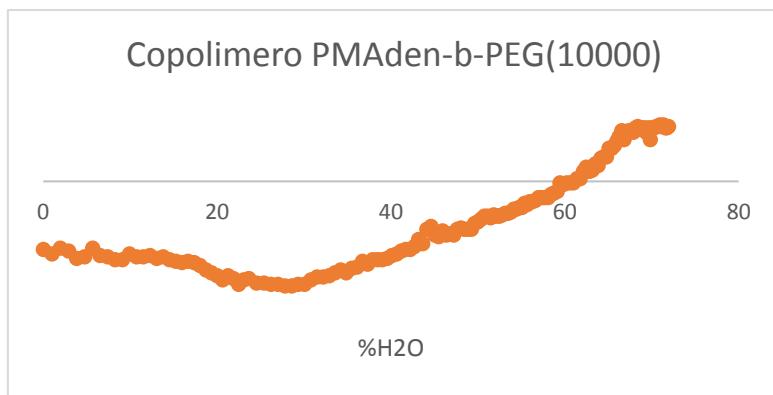


Figura 3.11. Estudio de nanoagregados PMAden-b-PEG(10000)

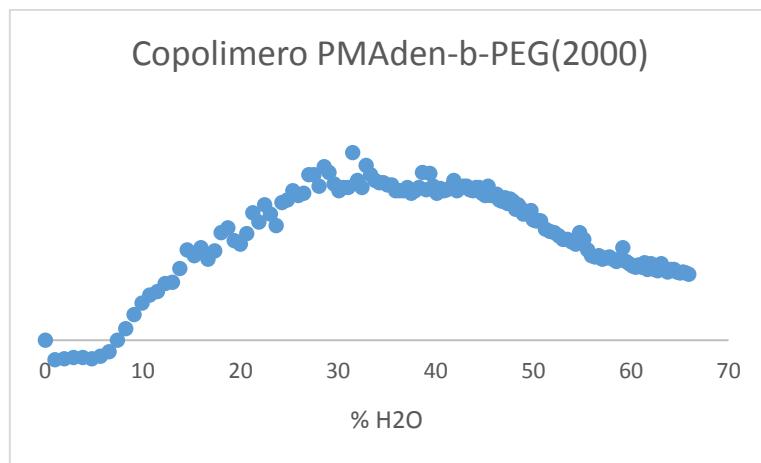


Figura 3.12. Estudio de nanoagregados PMAden-b-PEG(2000)

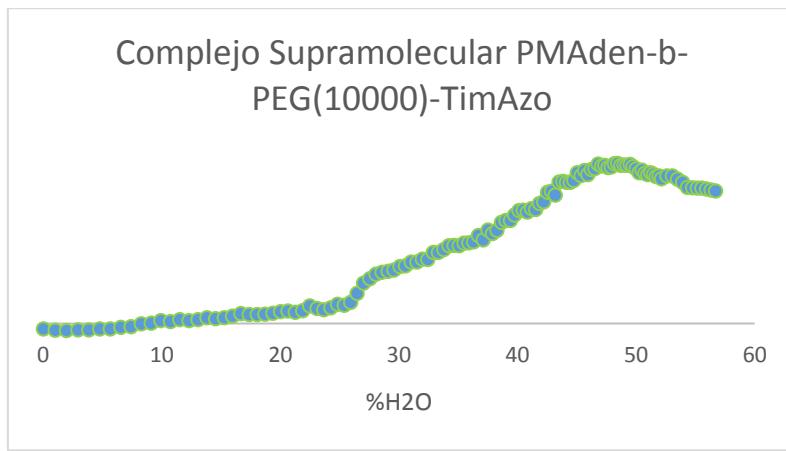


Figura 3.13. Estudio de nanoagregados PMAden-b-PEG(10000)-TimAzo

Tras la preparación se introdujeron las muestras en una membrana de diálisis y se dializó contra agua milliQ para eliminar los restos del disolvente orgánico. Posteriormente se prepararon las rejillas para realizar TEM.

Las siguientes imágenes fueron obtenidas con el copolímero PMAden-b-PEG(2000) (Figura 3.14), en la que se observan nanopartículas formadas a partir del copolímero bloque. Sin embargo, en el caso del copolímero PMAden-b-PEG(10000) (Figura 3.15) no

se consiguieron observar adecuadamente las nanopartículas mediante microscopía electrónica de transmisión.

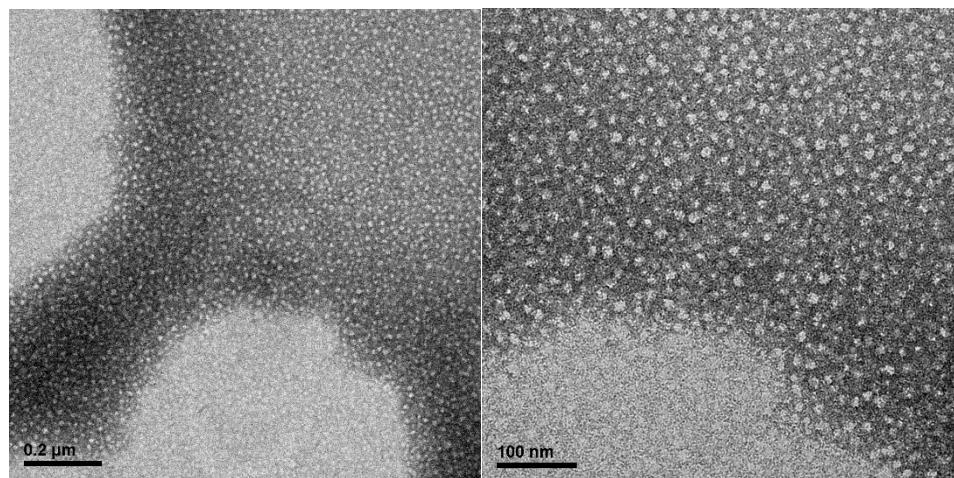


Figura 3.14. Nanoparticulas PMADen-b-PEG(2000). Escala: 0.2μm(izda) y 100nm(dcha)

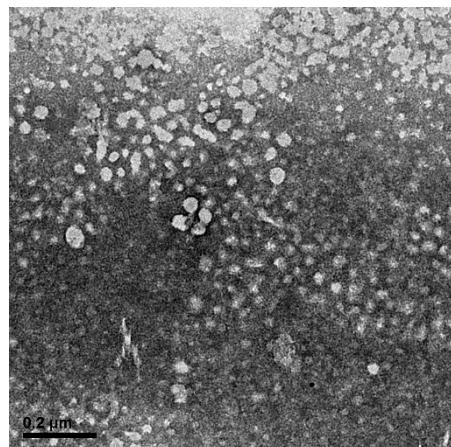


Figura 3.15. Nanoparticulas PMADen-b-PEG(10000). Escala: 0.2μm

Para confirmar la formación de las nanopartículas poliméricas también se recurrió a la técnica de Dynamic Light Scattering (DLS) o dispersión dinámica de luz. Dicha técnica mide la dispersión de luz al irradiar la muestra con un láser. Esta dispersión depende del tamaño de la partícula que la provoca, y nos da idea de los tamaños de agregados presentes en la muestra. Esta técnica se utiliza en la caracterización de polímeros y partículas coloidales. También proporciona información acerca de la homogeneidad en cuanto al tamaño de las nanopartículas (da una distribución de tamaños). En las siguientes graficas podemos observar las gráficas de intensidad de las nanopartículas formadas con los copolímeros PMADen-b-PEG(10000) y PMADen-b-PEG(2000) y la relación entre el número de nanopartículas con el tamaño de estas lo que nos informa de la homogeneidad de sus dimensiones.

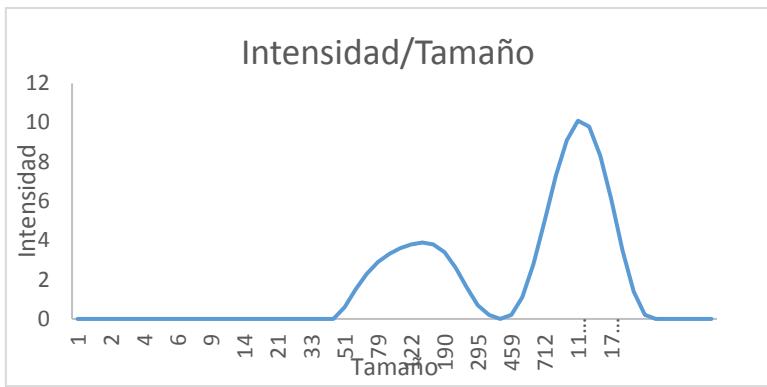


Figura 3.16 DLS PMAden-*b*-PEG(2000)(intensidad/tamaño)

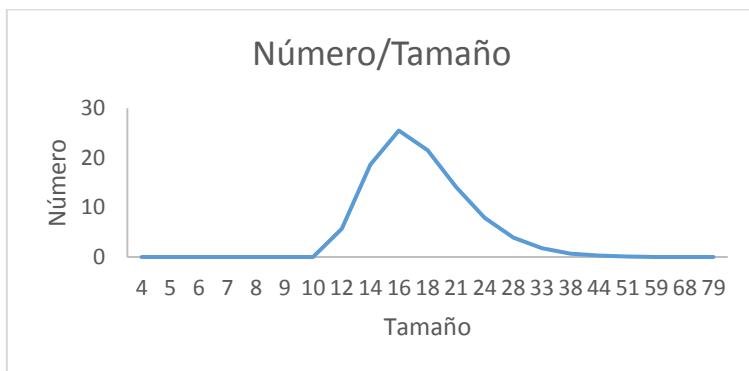


Figura 3.17 DLS PMAden-*b*-PEG(2000)(número/tamaño)

Se realizaron varias medidas de cada muestra que fueron, en general, reproducibles. En el caso de PMAden-*b*-PEG(2000) se observan dos señales principales que indican la presencia de micelas esféricas conjuntamente con agregados de las mismas. Debe considerarse que en la gráfica se representa intensidad, con lo que hay una mayor contribución de las partículas más grandes a la señal (depende de d^6). En número las más pequeñas son mucho más abundantes y prácticamente se puede concluir que tienen poca tendencia a unirse entre sí las micelas formadas que tiene además un tamaño medio (diámetro hidrodinámico) aproximado de 20 nm.

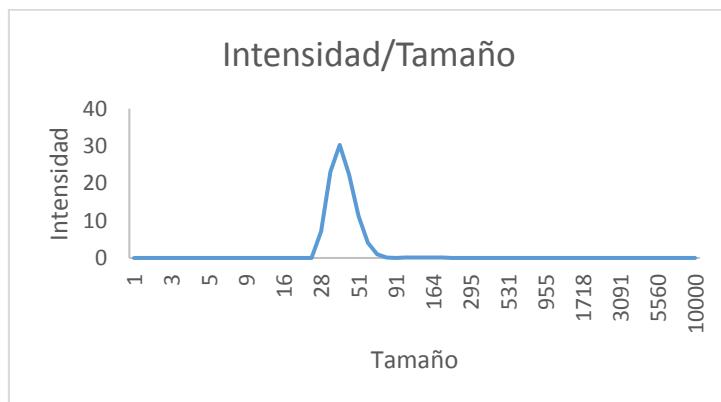


Figura 3.18. DLS PMAden-*b*-PEG(10000)(intensidad/tamaño)

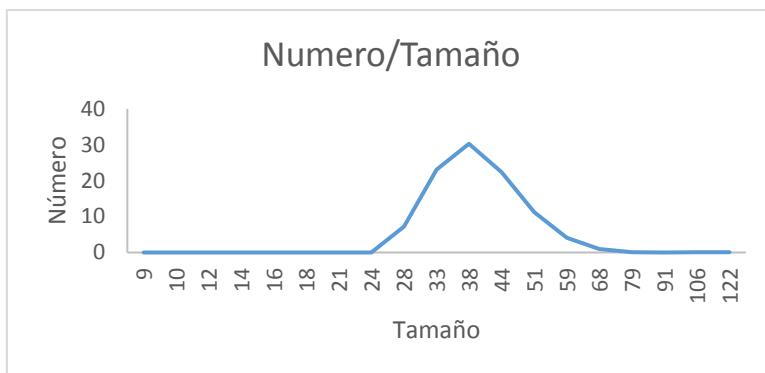


Figura 3.19 DLS PMAden-b-PEG(10000)(numero/tamaño)

Con el copolímero PMAden-b-PEG(10000) se procedió de la misma manera . En este caso la muestra es algo más dispersa, con picos anchos que tienden a desplazarse y ensancharse conforme se va midiendo. Esta evolución parece indicar que tiene más tendencia a agregarse.

3.6. Estudio de las propiedades térmicas

El estudio de las propiedades térmicas de los compuestos preparados se realizó mediante termogravimetría (TGA) y calorimetría diferencial de barrido (DSC). La termogravimetría permite analizar la pérdida mísica de un compuesto con la temperatura bajo una atmósfera inerte u oxidante. La calorimetría diferencial de barrido permite calcular las temperaturas de transición de fase de los compuestos o de cualquier proceso químico endotérmico o exotérmico, así como la entalpía implicada en los procesos.

La estabilidad de los copolímeros fue estudiada mediante TGA y su derivada DTGA (ver Figuras G.1, G.2 y G.3 Anexos). En la Tabla 3.1 se muestran los datos más destacados de los estudios realizados, calentando entre 30°C y 650°C en una atmósfera de nitrógeno (no oxidante); se incluyen temperaturas de 2% y 5% de pérdida de masa, así como el onset de la curva termogravimétrica y la temperatura de máxima velocidad de pérdida de masa calculada a partir de la derivada de la curva termogravimétrica.

Tabla 3.1. Datos de Termogravimetría (TGA) y primera derivada de la curva termogravimétrica (DTGA). Temperaturas en °C

Copolímero	T _a (2)	T _a (5%)	T(onset TGA)	T _a max(DTGA)
PMAden-b-PEG(2000)	259	277	277	405
PMAden-b-PEG(10000)	265	274	280	415
PMAden-b-PEG(10000)-TimAzo	196	231	280	345

Podemos ver que los compuestos tienen buena estabilidad hasta aproximadamente 260°C y pueden someterse a calentamiento hasta una temperatura próxima de 200°C con total margen de seguridad.

Tras ello se estudiaron los copolímeros mediante DSC. El programa de temperaturas ha sido el siguiente: 3 ciclos de calentamiento-enfriamiento de -50°C a 200°C a 10°C/min. (Ver Figuras G.4, G.5 y G.6 Anexos). Los datos recogidos en la Tabla 3.2 corresponden al segundo enfriamiento.

Tabla 3.2 Transiciones térmicas de los copolímeros. Temperaturas en °C

Copolímero	Tg	Tm
PMAden-b-PEG(2000)	-8	40
PMAden-b-PEG(10000)	1	52
PMAden-b-PEG(10000)-TimAzo		43 / 159

Para los copolímeros bloque de partida se observa una transición vítrea a baja temperatura que aumenta al aumentar la masa molecular del copolímero, seguida de un pico de fusión que también aumenta y se sitúa en 40-50°C. Sin embargo, en el caso del copolímero bloque supramolecular, no se aprecia la Tg y sí dos picos que aparentemente pueden ser de fusión a 43 y 159°C, y que puede ser debido, bien a dos zonas cristalinas distintas. Podría pensarse en BC que no esté formando enlaces de hidrógeno, pero sorprende en ese caso que no se observe la Tg.

4. Conclusiones

En este trabajo de fin de grado se han obtenido un polímero y dos copolímeros bloque derivados de un monómero metacrílico que contienen adenina, los cuales pueden formar enlaces de hidrógeno con unidades TimAzo, para su empleo en la preparación de complejos supramoleculares con azobenceno con unidades con fotorrespuesta. Los principales resultados que he obtenido en la síntesis de dichos polímeros y en el estudio de sus propiedades son las siguientes:

- La polimerización RAFT es un método apropiado para la obtención de polímeros y copolímeros bloque. Los copolímeros bloque están formados por un bloque hidrófilo de PEG y un bloque hidrófobo de metacrilato que contiene una unidad de adenina dando lugar a un copolímero anfílico con capacidad de formar complejos supramoleculares por enlace de hidrógeno.

-Los copolímeros formados fueron debidamente caracterizados utilizando las técnicas de ^1H NMR e IR, mediante las cuales se confirmó su grado de polimerización. También se les realizaron análisis de sus propiedades térmicas (TGA y DSC).

-Los complejos supramoleculares se estudiaron por ^1H NMR e IR donde se demostró la presencia del enlace de hidrógeno entre la adenina del copolímero y la timina de la unidad azobenceno. En este copolímero supramolecular también se estudió sus propiedades térmicas por DSC y TGA.

-El objetivo final de este trabajo era la preparación de nanoagregados en agua, el procedimiento fue el mismo para los tres copolímeros, disolución en THF y adición progresiva de agua. En el caso del PMADen-b-PEG(2000) se observaron micelas esféricas con un tamaño de entorno 20-30 nm lo cual se comprobó por TEM y DLS, para los copolímeros PMADen-b-PEG(10000) y PMADen-b-PEG(10000)-TimAzo no se observaron micelas homogéneas. En el caso del copolímero supramolecular posiblemente fuera debido a la precipitación de la unidad azobenceno durante su preparación.

Para acabar se puede concluir que la polimerización RAFT es útil en la preparación de copolímeros anfífilos ya que transcurre de forma controlada, y que la interacción supramolecular por enlace de hidrógeno entre la adenina y la timina es óptima en la formación de complejos supramoleculares funcionales. Además se ha logrado preparar micelas de tamaño homogéneo a partir de un copolímero bloque aunque no se haya logrado con el copolímero supramolecular.

5. Procedimiento experimental

5.1. Síntesis de 9-(2-hidroxietil) adenina.

En un matraz de 250 mL se introduce adenina (10 g, 74 mmol) y 50 mg (1.25 mmol) de NaOH y se disuelven los sólidos en 150 mL de DMF previamente destilada. Se calienta a 110°C, durante 5 horas. Transcurrido este tiempo se evapora el máximo de DMF por destilación en el rotavapor, se obtiene un sólido pastoso que se suspende en DCM y se filtra. Posteriormente el sólido obtenido se recristaliza en etanol caliente para obtener 33.52 mmol del compuesto deseado (Rdto: 45%).

^1H NMR (300 MHz, DMSO) δ 8.14 ppm (1H, s), 8.08 ppm (1H, s), 7.20 ppm (2H, s), 5.03 ppm (1H, s), 4.19 ppm (2H, J=0.2, t), 3.74 ppm (2H, J=0.2, t).

^{13}C NMR (101 MHz, DMSO) δ 155.74 ppm, 152.07 ppm, 149.37 ppm, 141.13 ppm, 118.54 ppm, 59.08 ppm, 45.53 ppm.

IR (KBr), ν (cm^{-1}): 3100, 3250 (NH₂), 3200 (OH), 1660, 1620, 1580 (Ar), 1200(C-O).

Ánálisis elemental (teórico): C 46.97% (46.92%), H 4.73% (5.06%) y N 38.9% (39.09%).

5.2. Síntesis del monómero metacrílico: 9-(metacriloiloxietiloxicarbonil-propanoiletil)adenina

En un matraz de 250 mL se introducen 3 g (16.75 mmol) de 9-(2-hidroxietil) adenina, 3.85 g (16.75 mmol) de succinato de mono-2metacriloiloxietilo y DPTS (1.56 g, 5.03 mmol). La mezcla de reacción se evita exponerla a la luz y se introduce argón para trabajar en atmósfera inerte. Los sólidos se disuelven en DMF previamente destilada y la mezcla se enfriá en baño de hielo, después se añade EDC (3.85 g, 20.11 mmol). Se deja reaccionar 24 horas a 50°C.

Transcurrido este tiempo, se destila la DMF a 40°C usando una bomba de vacío, añadiendo un inhibidor térmico como el 2,6-diter-butil-4-metil fenol. La pasta obtenida se disuelve en agua (disolución saturada de NaCl) y se realizan tres extracciones con acetato de etilo. Posteriormente se juntan las fracciones y se evapora el disolvente para obtener una mezcla de dos compuestos.

El producto perseguido se purifica mediante cromatografía de columna en AcOEt/MeOH 99/1 y se evapora el disolvente en el rotavapor. Tras ello se disuelve en THF, se precipita en hexano frio y se seca a la trompa. Se obtienen 3.07 mmol del producto buscado (Rdto: 20%).

¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 8.37 ppm (s, 1H), 8.03 ppm (s, 1H), 6.71 ppm (s, 2H), 6.14 ppm (m, 1H), 5.61 ppm (q, 1H), 4.51 ppm (m, 4H), 4.37 ppm (m, 4H), 2.6 ppm (m, 4H) 1.96 ppm (m, 3H).

¹³C NMR (101 MHz, CDCl₃) δ 172 ppm, 171.8 ppm, 167.11 ppm, 154.88 ppm, 151.73 ppm, 149.88 ppm, 141.38 ppm, 135.68 ppm, 126.12 ppm, 119.46 ppm, 62.58 ppm, 62.53 ppm, 62.27 ppm, 42.80 ppm, 28.79 ppm, 28.73 ppm, 18.27 ppm.

IR (KBr), ν (cm⁻¹): 3340, 3159 (NH₂), 1720 (C=O), 1663 (C=C), 1597, 1580, 1575 (Ar), 1185 (C-O).

Ánálisis elemental (teórico): C 52.21% (52.17%), H 5.63% (5.41%) y N 17.6% (17.89%).

5.3. Síntesis del homopolímero PMAden

Se adicionan 0.2 g (0.5113 mmol) del monómero, 2.59 mg (0.012 mmol) del agente de transferencia de cadena ácido 4-ciano-4-(feniltiocarboniltio) pentanoico y 0.503 mg (0.0036 mmol) de AIBN (iniciador radicalario) en un Schlenk y se realizan ciclos de vacío-argón para conseguir atmósfera inerte. Se añaden 2 mL de DMF previamente destilada y se consigue atmósfera inerte mediante 3 ciclos de sucesivos de vacío, introduciendo la muestra en nitrógeno líquido, y posterior llenado con argón la vez que se deja que pase la muestra a temperatura ambiente. Tras ello se deja reaccionar durante 24 horas a 80°C.

Una vez pasadas las 24 horas se precipita la disolución sobre metanol frio y se centrifuga, posteriormente se filtra y se lava con metanol frío y se seca a vacío el producto. Por RMN se comprueba que las señales correspondientes al metacrilato libre han desaparecido. Se obtienen 0.3 g (0.44 mmol) del producto buscado (Rdto: 88%).

¹H NMR (400 MHz, DMSO) δ 8.13 ppm (s, 1H), 8.09 ppm (s, 1H), 7.25 ppm (s, 2H), 4.38 ppm (m, 4H), 4.12 ppm (m, 4H), 2.6 ppm (m, 4H), 1.32 ppm (m, 5H).

5.4. Síntesis del copolímero bloque PMAden-b-PEG(2000)

Se añaden 200 mg (0.511 mmol) del monómero, 102.26 mg (0.051 mmol) del macroCTA basado en un PEG de masa molecular 2000 (de acuerdo a fabricante y comprobado por MALDI-TOF MS) y 2.52 mg (0.0153 mmol) de AIBN a un Schlenk en el que se realizan ciclos sucesivos de vacío-argón para desgasificar. Posteriormente se disuelven los sólidos en 2 mL de DMF previamente destilada y seca, se congela el disolvente y se

realiza ciclos sucesivos de vacío-argón para conseguir atmósfera inerte. Se deja reaccionar 24 horas a 80°C.

Tras las 24 horas se precipita el crudo de reacción en éter frío, se filtra, se lava con éter frío y se seca. Se obtienen 225 mg, 0.52 mmol (Rdto=92%)

¹H NMR (400 MHz, DMSO) δ 8.14 ppm (s, 10H), 8.09 ppm (s, 10H), 7.28 ppm (s, 20H), 4.38 ppm (m, 40H), 4.15 ppm (m, 40H), 3.51 ppm (s, 180H), 2.6 ppm (m, 40H), 1.83 ppm (m, 20H), 1.10 ppm (m, 30H).

IR (KBr), ν (cm⁻¹): 3384, 3182 (NH₂), 1749 (C=O), 1648, 1601, 1574 (Ar), 1243 (C-O).

5.5 Síntesis del copolímero bloque PMAden-b-PEG(10000)

Añado 300 mg (0.7672 mmol) del monómero, 166 mg (0.016 mmol) de PEG y 0.82 mg (0.0053 mmol) de AIBN a un tubo Schlenk al que se realizan ciclos de vacío-argón. Posteriormente se disuelven los sólidos en 2 mL de DMF previamente destilada, se congela el disolvente y se realizan ciclos de vacío argón. Se deja reaccionar 24 horas a 80°C. Se obtienen 325 mg, 0.75 mmol (Rdto=95%)

Tras las 24 horas se precipita el crudo de reacción en éter frío, se filtra y se seca. Se realiza la caracterización por RMN e IR.

¹H NMR (400 MHz, DMSO) δ 8.14 ppm (s, 48H), 8.09 ppm (s, 48H), 7.27 ppm (s, 96H), 4.38 ppm (m, 192H), 4.14 ppm (m, 192H), 3.51 ppm (s, 901H), 2.6 ppm (m, 192H), 1.81 ppm (m, 96H), 1.14 ppm (m, 144H).

IR (KBr), ν (cm⁻¹): 3442, 3132 (NH₂), 1725 (C=O), 1645, 1599, 1576 (Ar), 1251 (C-O).

Ánálisis elemental: C 51.75% (51.70%), H 6.59% (6.73%) y N 11.12% (11.20%).

5.6. Síntesis del copolímero bloque supramolecular.PMAden-b-PEG(10000)·TimAzo

Se mezclan 30 mg (0.077mmol) de PMAden-b-PEG(10000) y 41,9 mg (0.077mmol) de TimAZO en un tubo clip y se disuelven en 2 mL de THF, se agita al aire a temperatura ambiente durante 24 h. Tras ello se seca a vacío y se lleva a cabo la caracterización ¹H NMR e IR para comprobar la formación de enlaces de hidrógeno (véase memoria)

¹H NMR (400 MHz, DMSO) δ 11.18 (s, 18 H), 8.14 (s, 45H), 8.09 (s, 43H), 7.82 (d, J = 8.9 Hz, 63H), 7.52 (s, 20H), 7.27 (s, 85H), 7.10 (dd, J = 9.0, 4.1 Hz, 61H), 6.84 (s, 72H), 4.38 (s, 202H), 4.06 (s, 92H), 3.92 (s, 35H), 3.85 (d, J = 6.5 Hz, 36H), 3.59 (s, 54H), 3.51 (s, 871H), 3.32 (s, 445H), 2.06 (s, 35H), 1.75 (s, 113H), 1.25 (s, 432H), 1.01 (d, J = 6.7 Hz, 89H), 0.95 (d, J = 6.7 Hz, 36H), 0.92 – 0.64 (m, 189H).

IR (KBr), ν (cm⁻¹): 3440, 3185 (NH₂), 2900 (Csp³-H), 1745 (C=O), 1678(C=O), 1639, 1604, 1580 (Ar), 1238 (C-O).

Anexos

Anexo A-F: Espectros (IR, ^1H NMR, ^{13}C NMR)

9-(2-hidroxietil) adenina:

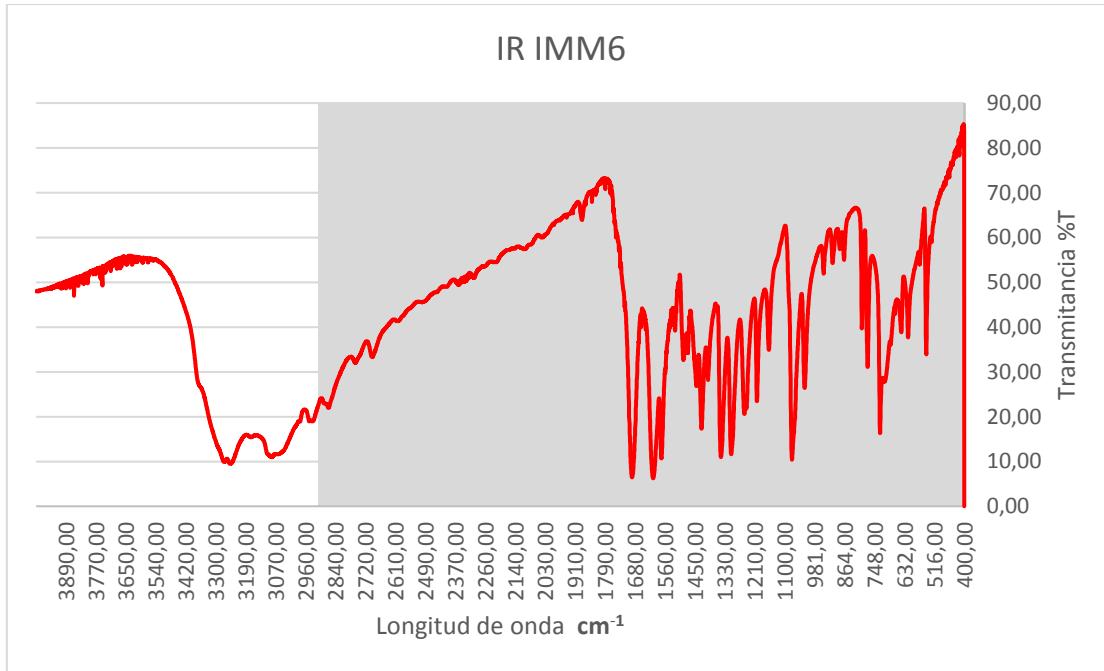


Fig. A.1 Espectro de IR (KBr)

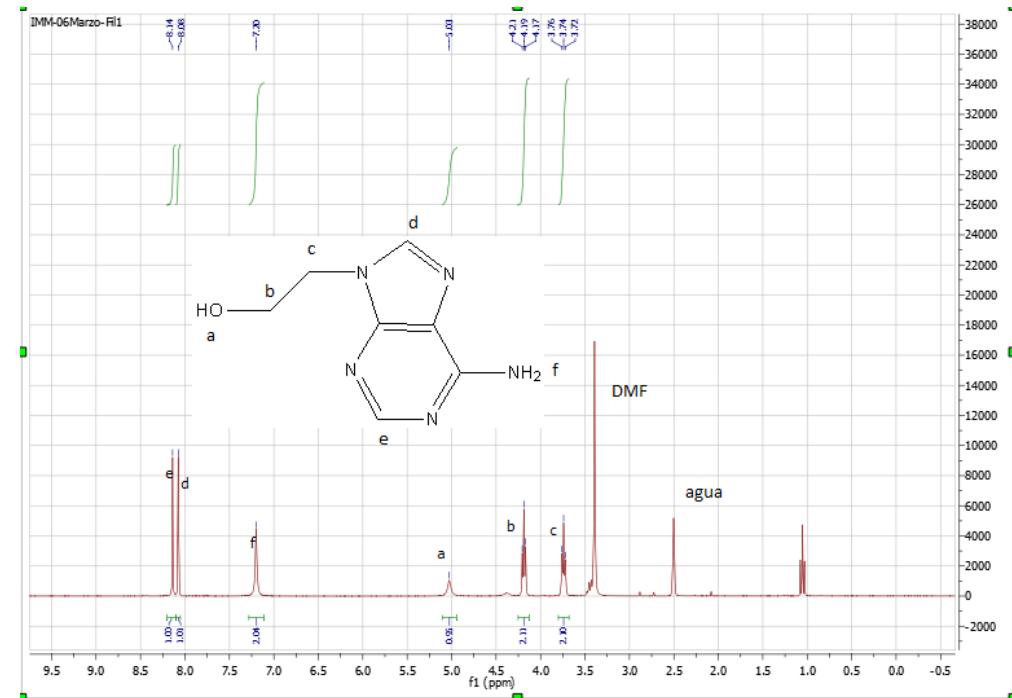


Fig. A.2 Espectro de ^1H -RMN (DMF, 400MHz) δ (ppm)

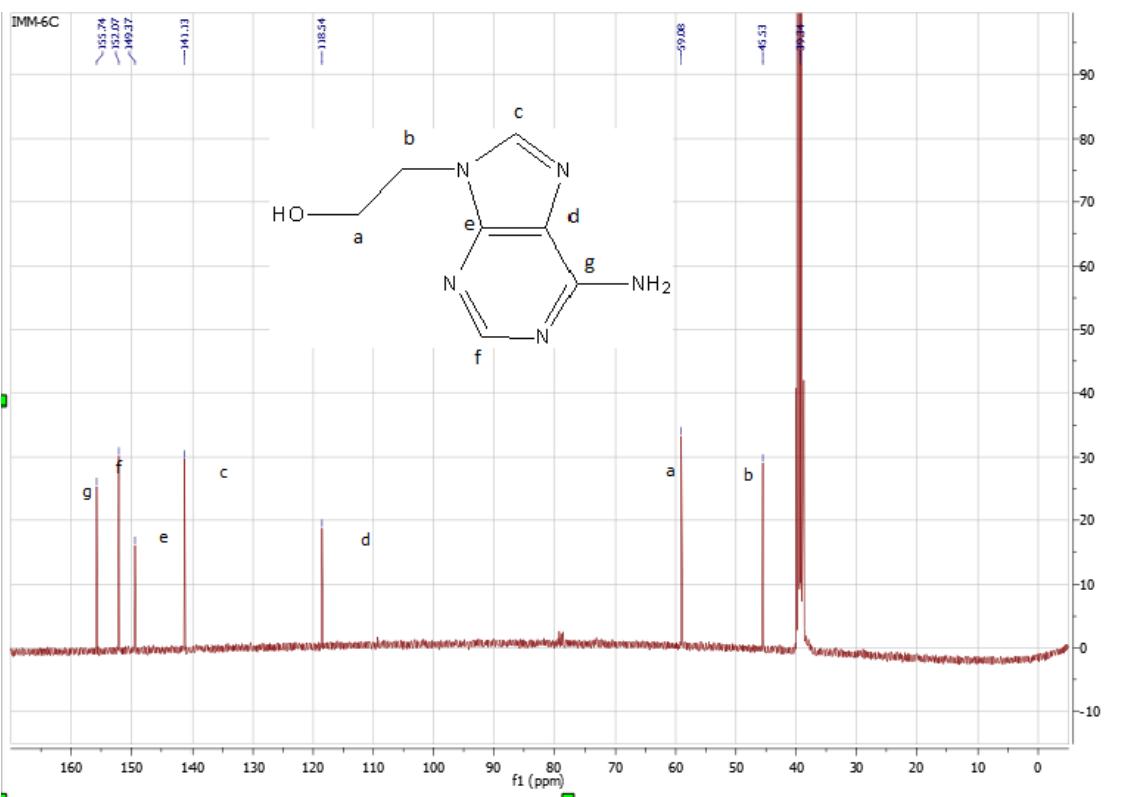


Fig. A.3 Espectro de ^{13}C -RMN ((CD₃)₂SO, 100MHz) δ (ppm)

Monómero metacrílico con adenina

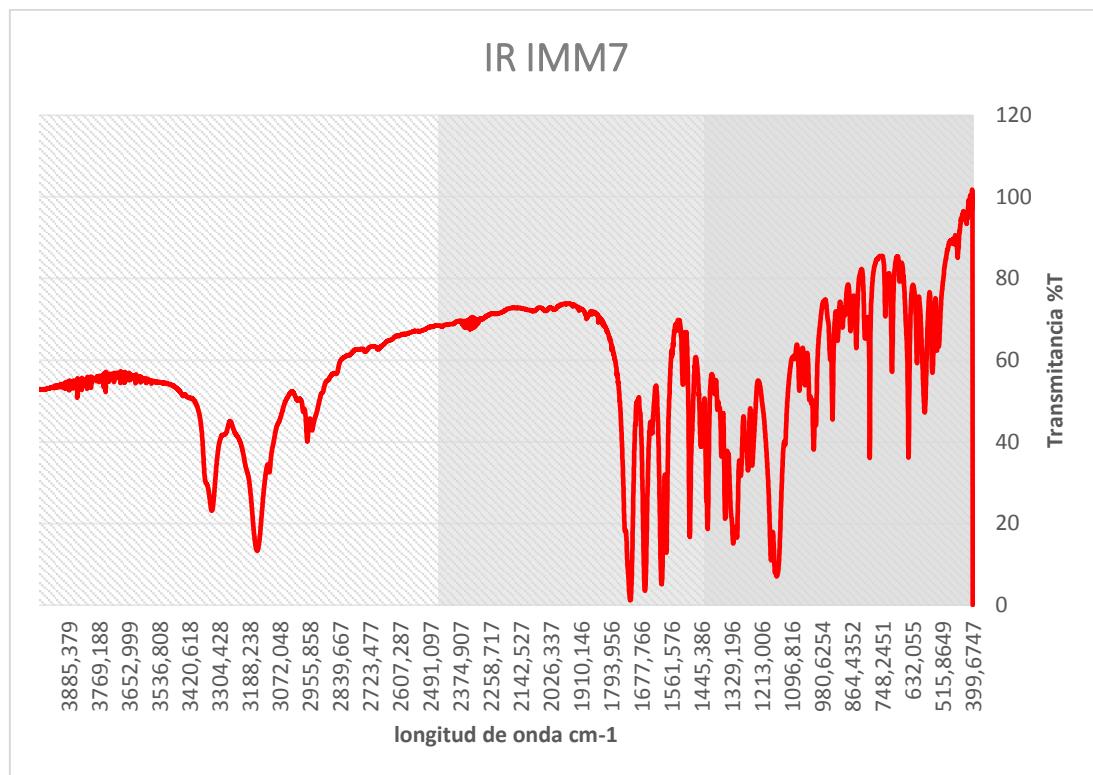


Fig. B.1 Espectro de IR (KBr)

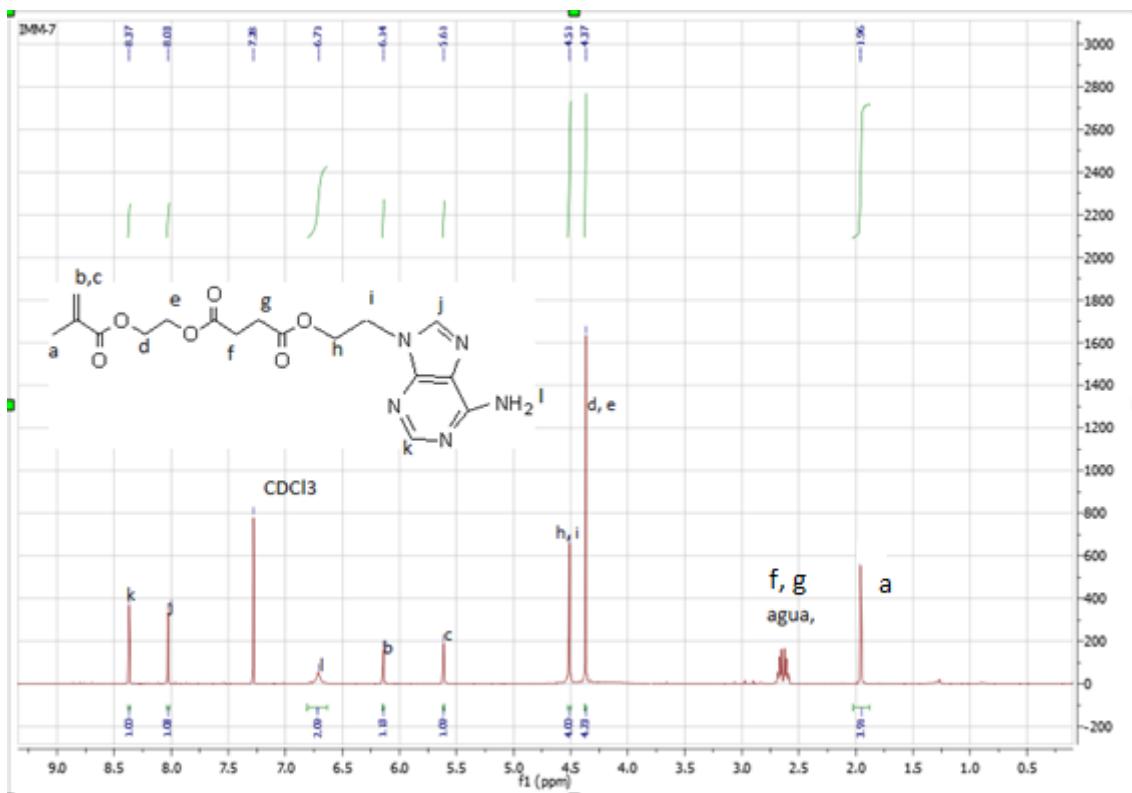


Fig. B.2 Espectro de H-RMN (CDCl₃, 100MHz) δ (ppm)

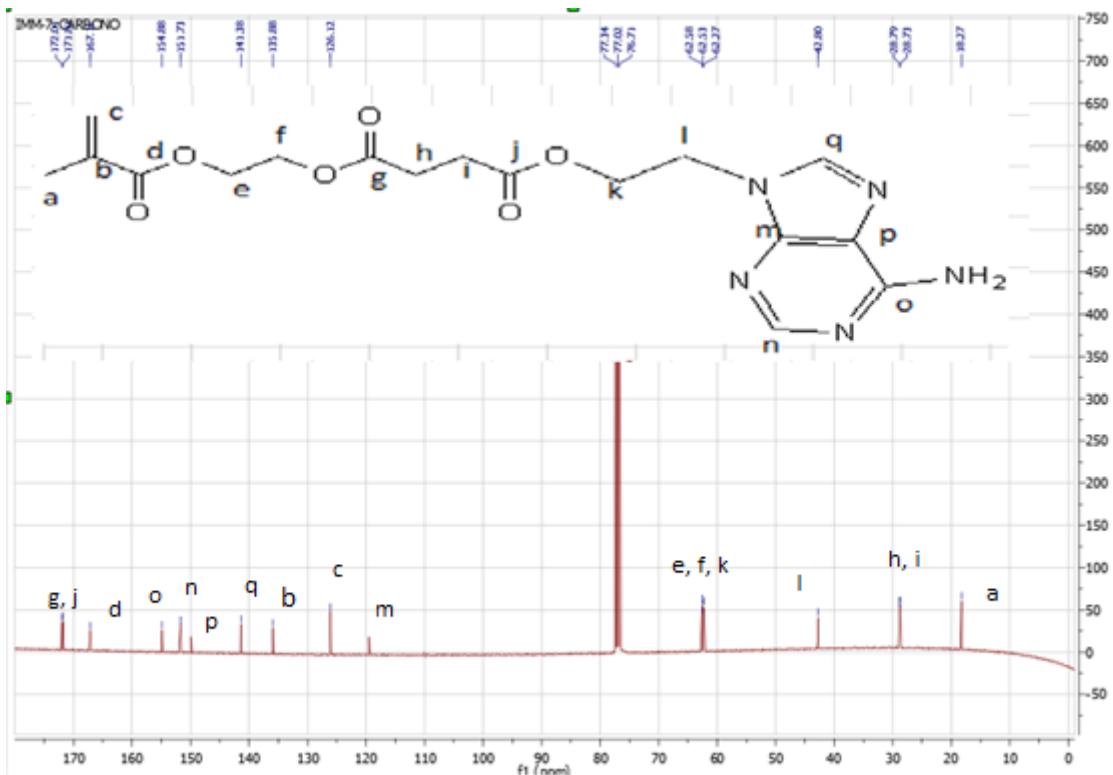


Fig. B.3 Espectro de 13C-RMN (CDCl₃, 100MHz) δ (ppm)

Polímero PMAden

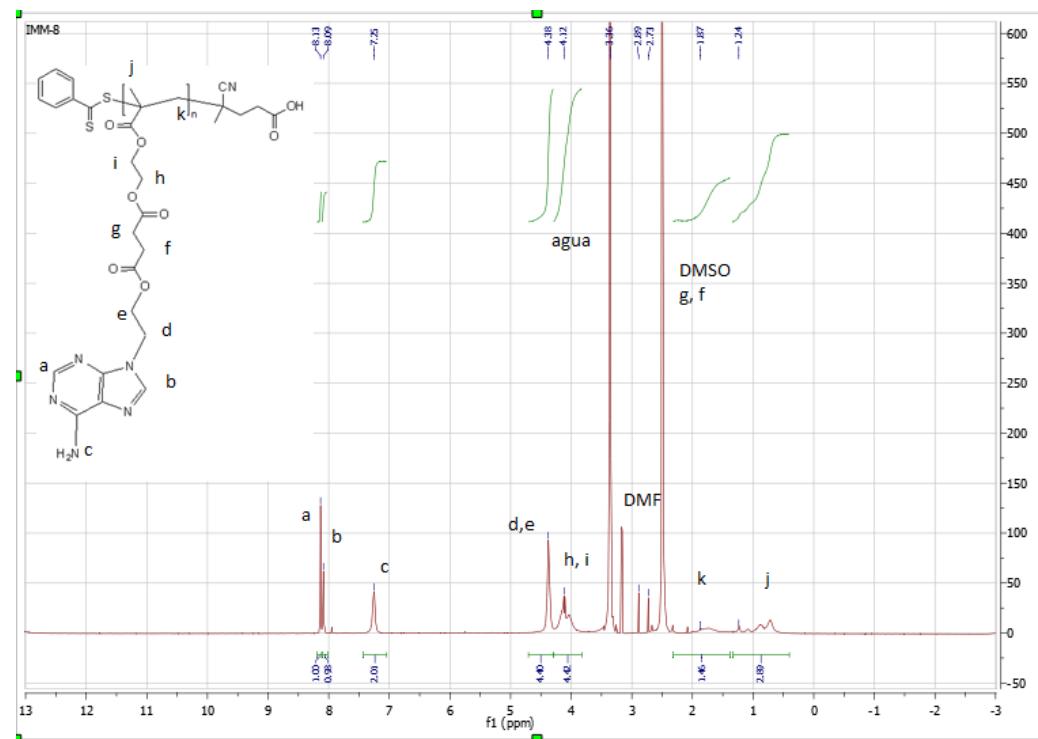


Fig. C.1 Espectro de H-RMN (DMSO, 100MHz) δ (ppm)

Copolímero PMAden-b-PEG(10000)

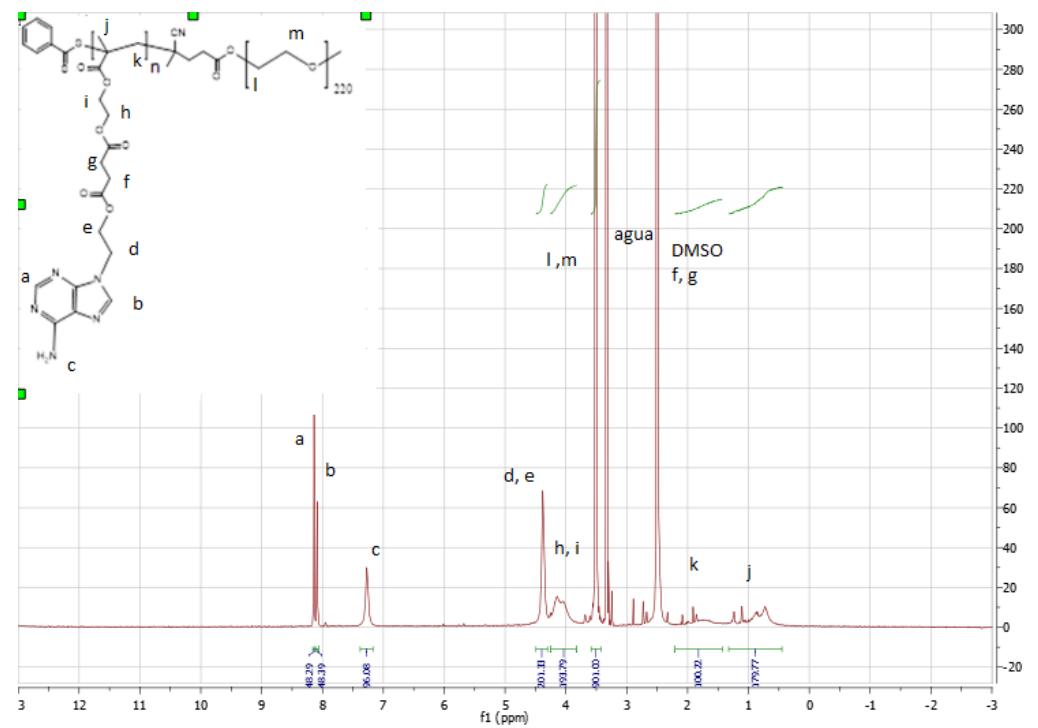


Fig. D.1 Espectro de H-RMN (DMSO, 100MHz) δ (ppm)

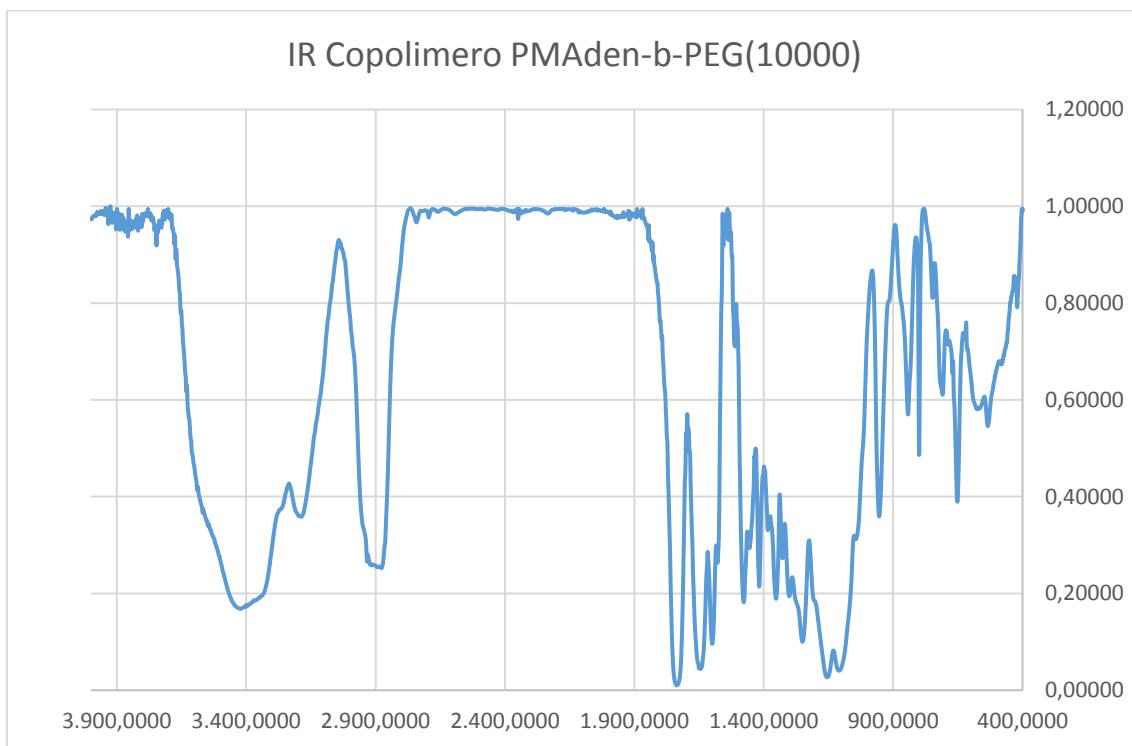


Fig. D.2 Espectro de IR (KBr)

Copolímero PMAden-b-PEG(2000)

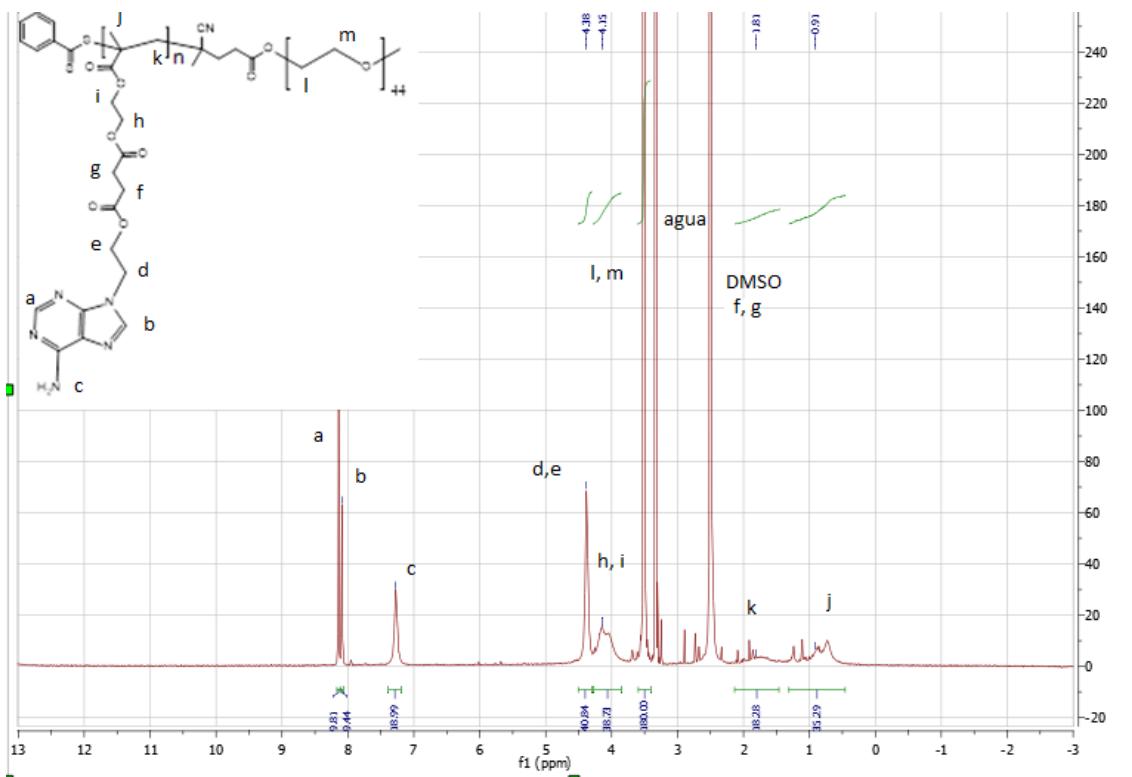


Fig. E.1 Espectro de H-RMN (DMSO, 100MHz) δ (ppm)

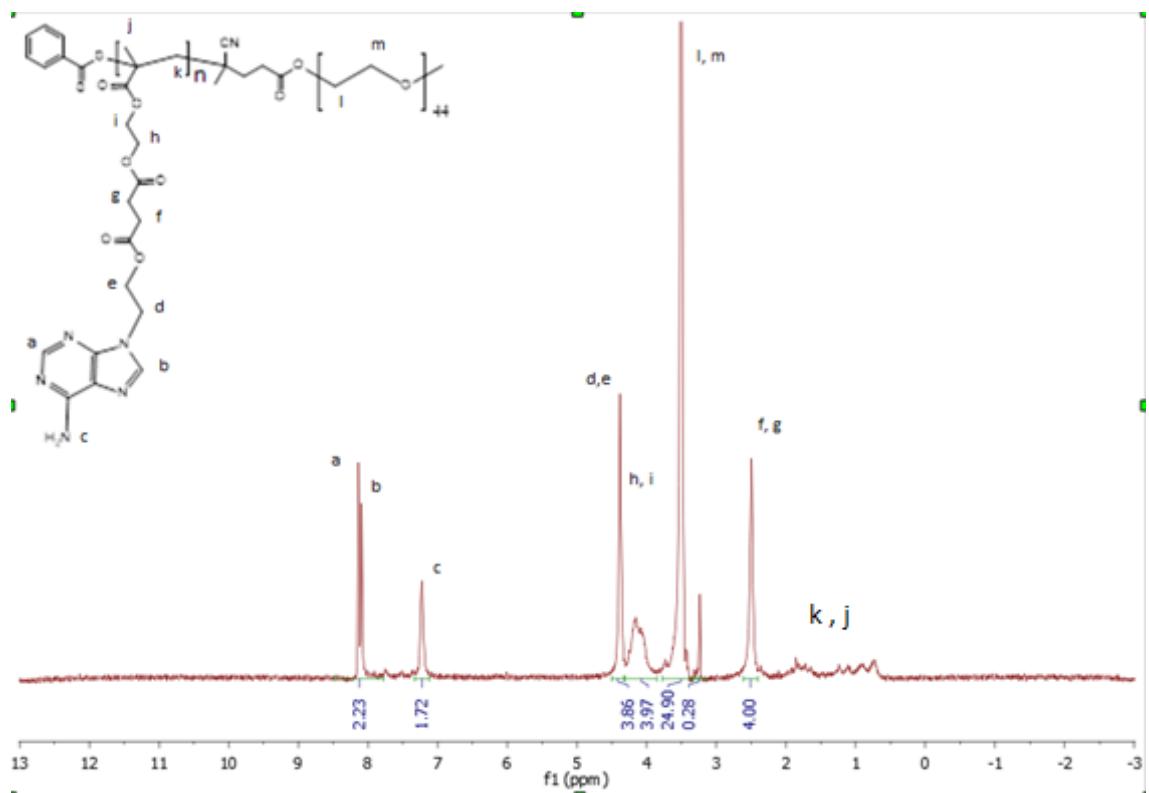


Fig. E.2 Espectro de H-RMN DOSY (DMSO, 100MHz) δ (ppm)

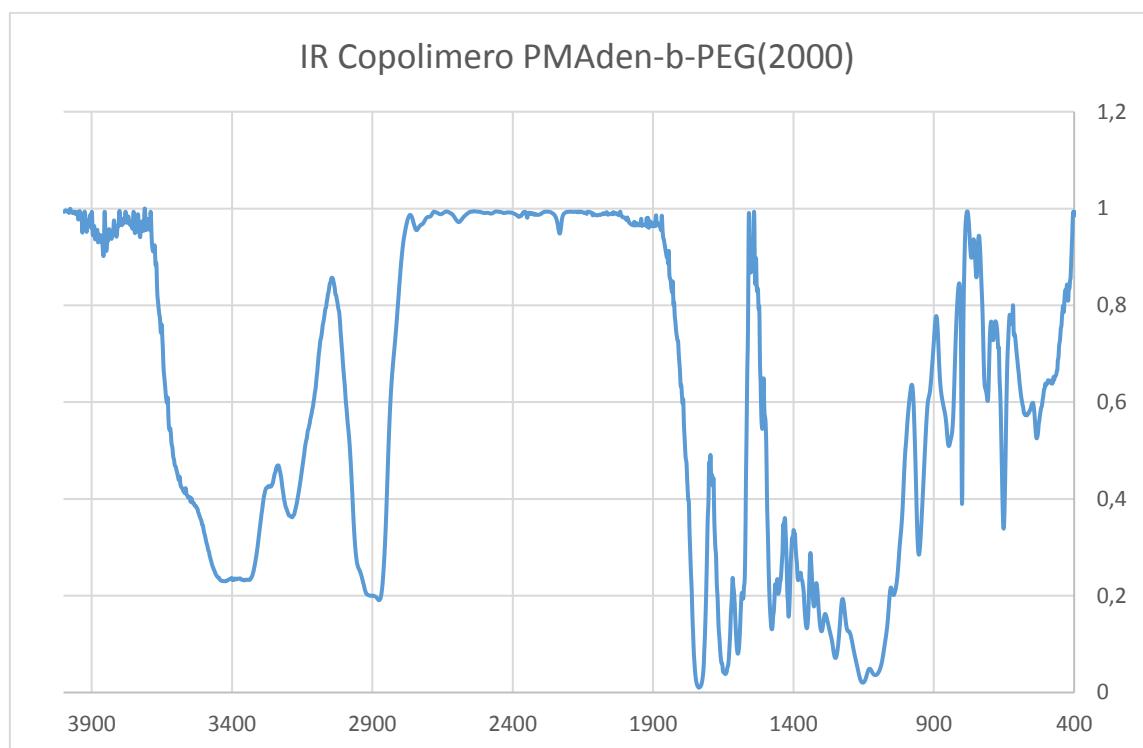


Fig. E.3 Espectro IR (KBr)

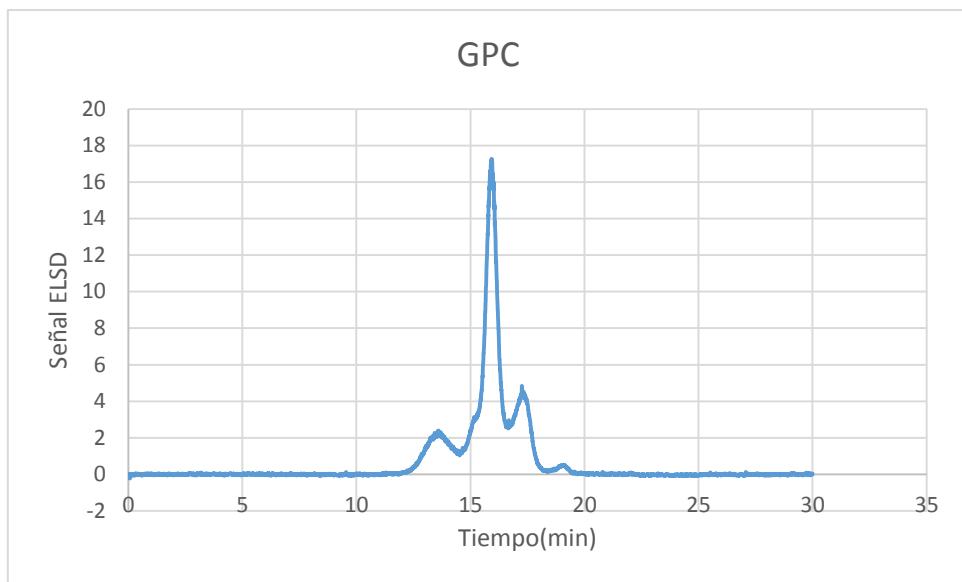


Fig. E.4 GPC PMAden-b-PEG(2000)

Complejo PMAden-b-PEG (10000)-Tim-AZO

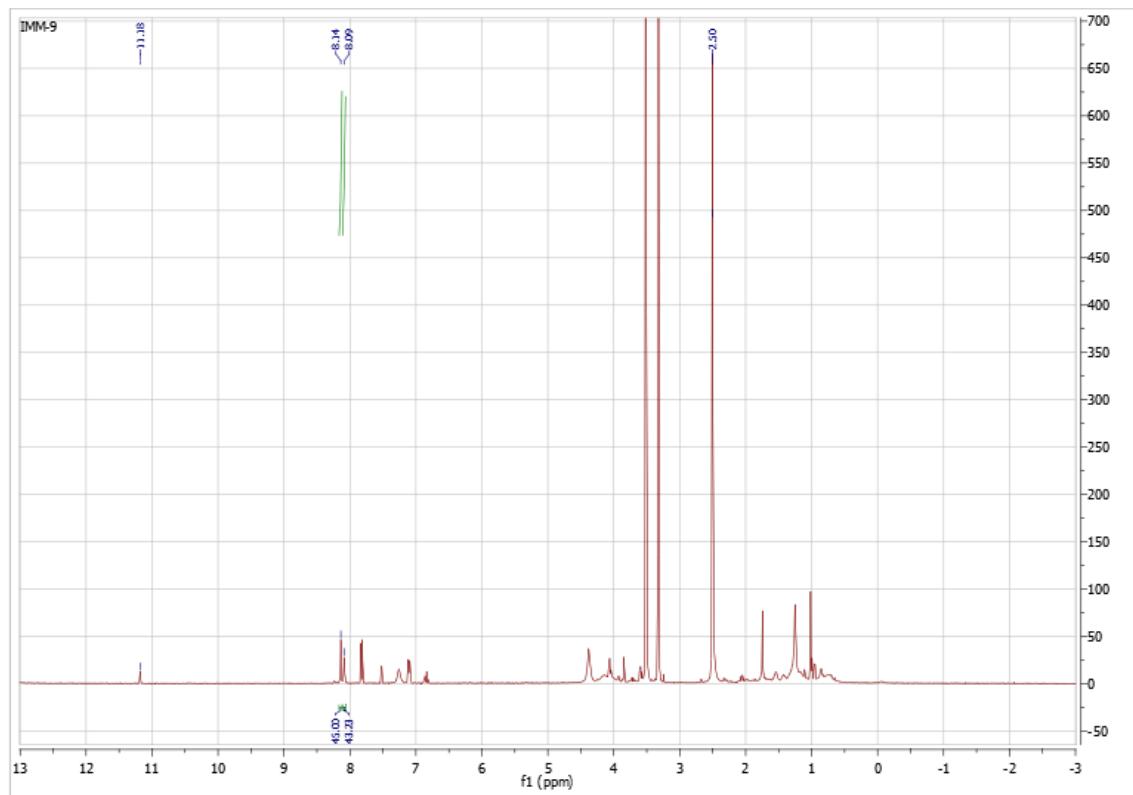


Fig. F.1 Espectro de H-RMN (DMSO, 100MHz) δ (ppm)

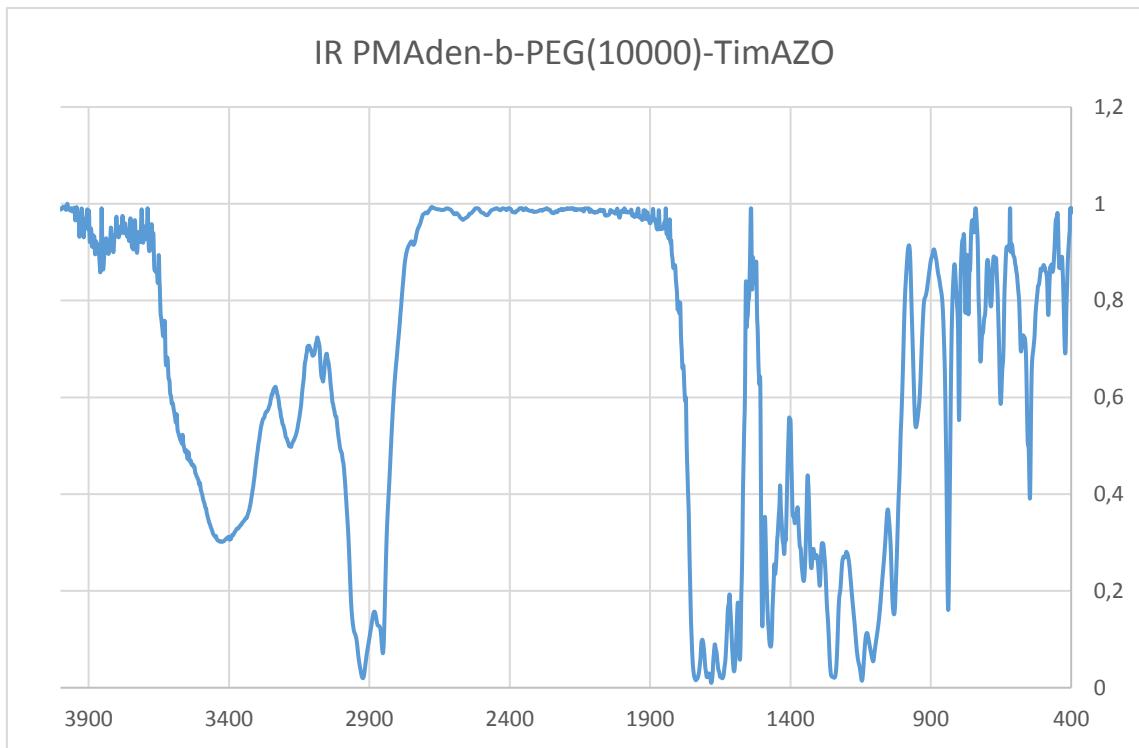


Fig. F.2 Espectro de IR (KBr)

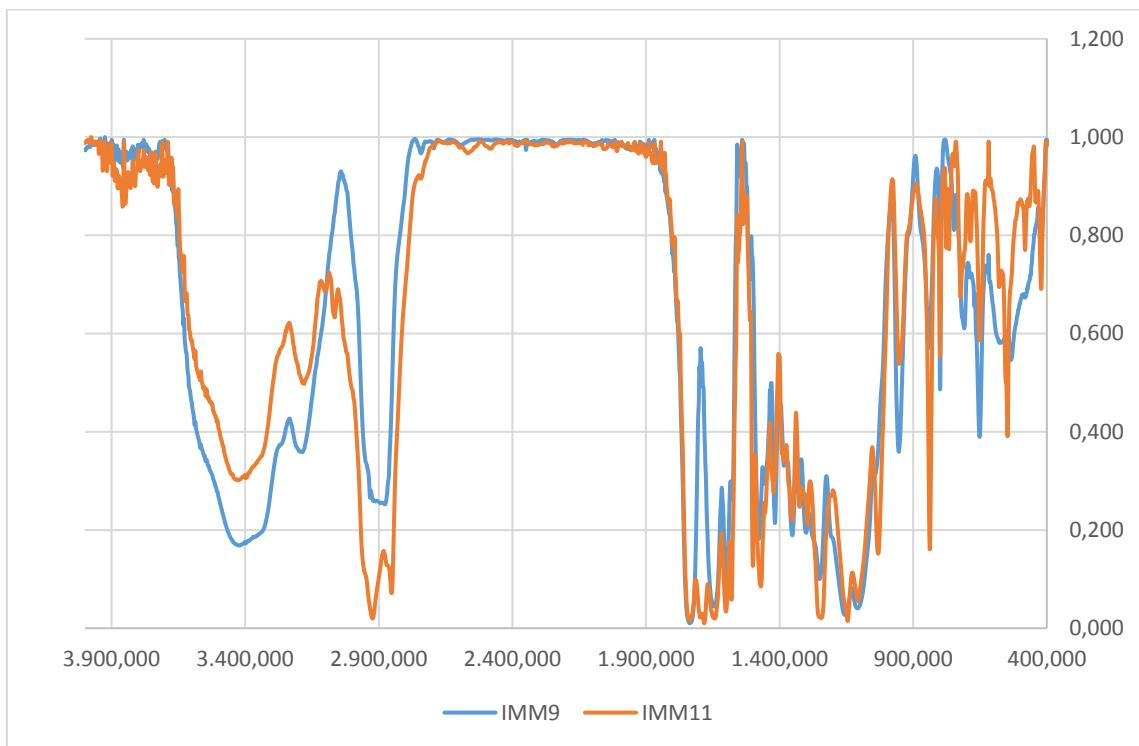


Fig. F.3 Espectro de IR comparando PMAden-b-PEG(10000)(azul) con PMAden-b-PEG(10000)-TimAzo(naranja)(KBr)

Anexo G: Caracterización térmica

Termogravimetría (TGA, DTGA)

Copolímero PMAden-*b*-PEG(10000)

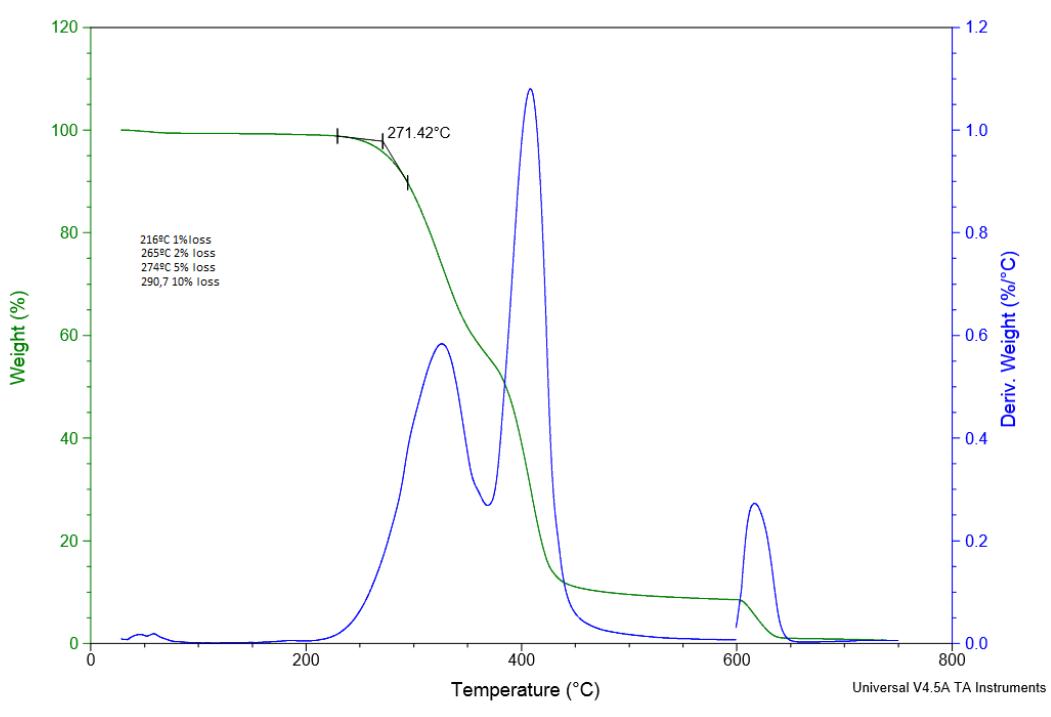


Figura G. 1. TGA (verde) DTGA (azul) de copolímero PMAden-*b*-PEG(10000)

Copolímero PMAden-*b*-PEG(2000)

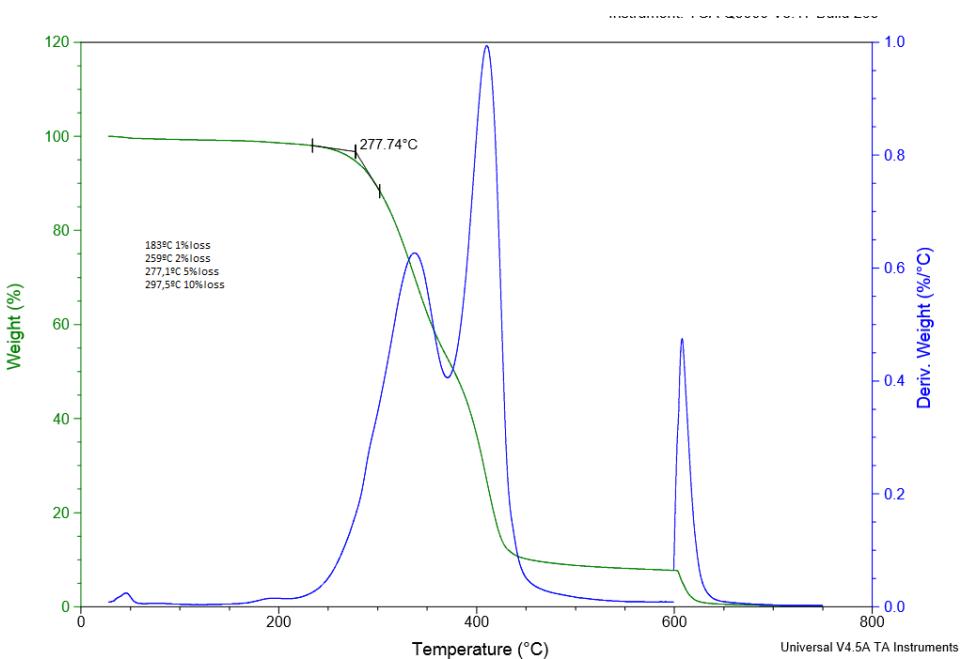


Figura G.2 TGA (verde) y DTGA (azul) de copolímero PMAden-*b*-PEG(2000)

PMAden-*b*-PEG(10000)-TimAzo

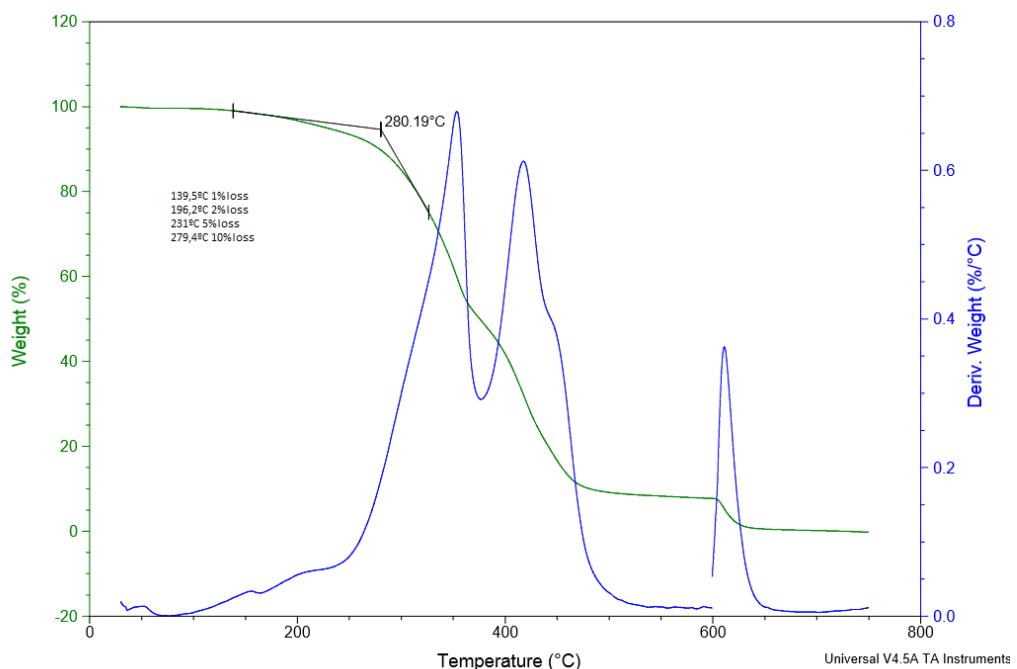


Figura G.3 TGA (verde) y DTGA (azul) de copolímero PMAden-*b*-PEG(10000)-TimAzo

Calorimetría diferencial de barrido (DSC)

Copolímero PMAden-*b*-PEG(10000)

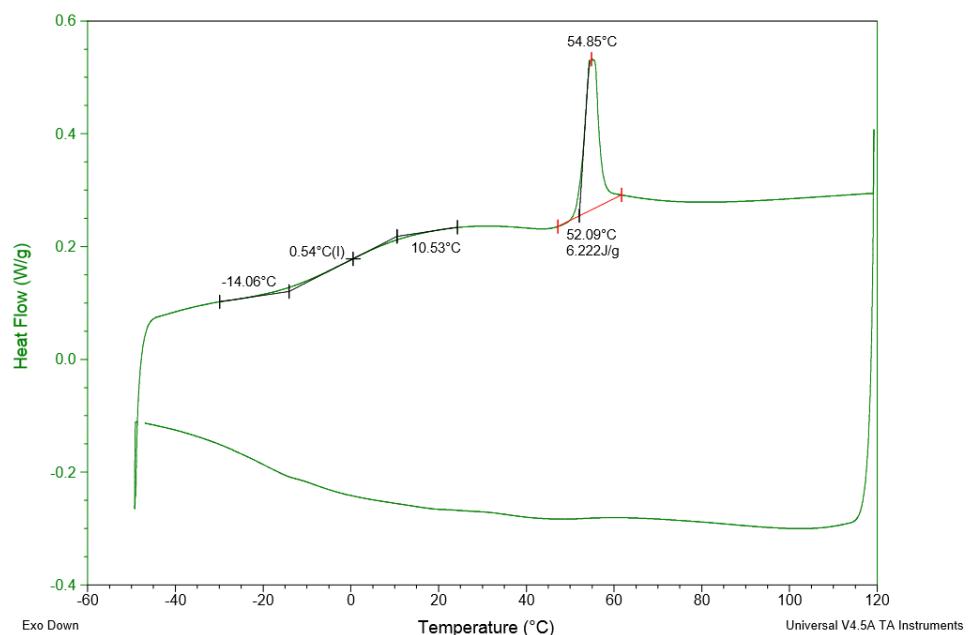


Figura G.4 DSC segundo barrido copolímero PMAden-*b*-PEG(10000)

Copolímero PMAden-b-PEG(2000)

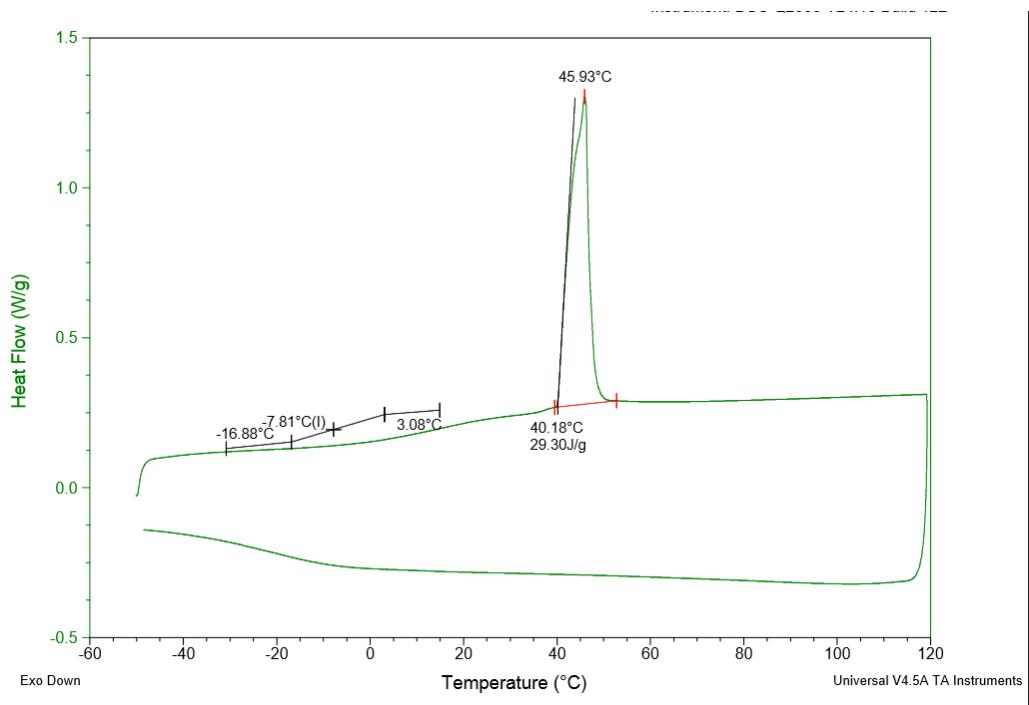


Figura G.5 DSC segundo barrido copolímero PMAden-b-PEG(2000)

PMAden-b-PEG(10000)-TimAzo

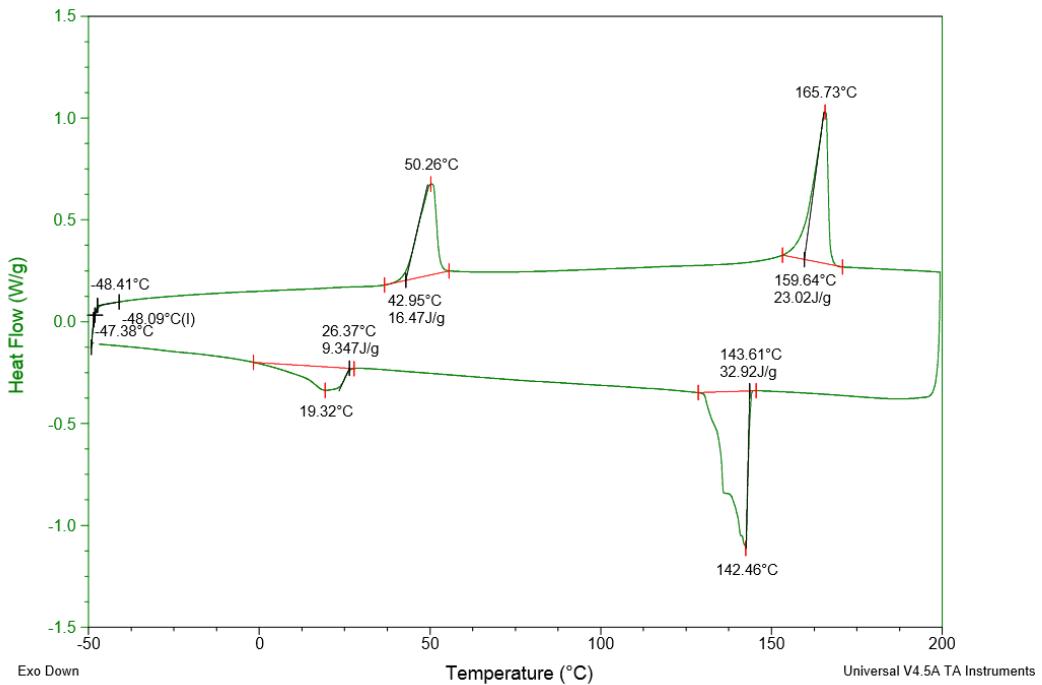


Figura G.6 DSC segundo barrido copolímero PMAden-b-PEG(10000)-TimAzo

Anexo H: Técnicas e instrumentos

Espectroscopía Infrarroja: IR

Pastillas de KBr o películas poliméricas depositadas sobre sustrato de KBr

- Nicolet Matson Avatar 360
- Bruker Vertex 70

Resonancia Magnética Nuclear:

RMN Disolventes deuterados. 400 MHz para ^1H y 100 MHz para ^{13}C

- Bruker AV-400

Cromatografía de Exclusión por Tamaños o Permeabilidad en Gel: GPC

Eluyente THF, 1 mL/min con columnas Waters Styragel® (7.8 mm I.D. x 300 mm) HR 2 y HR 4.

- Waters 2695 Alliance
- Detector de Light Scattering evaporativo Waters 2420

Análisis Térmico: TGA-DTGA

Muestras en polvo (2-5 mg). Velocidad de barrido 10 °C /min desde 30 a 600 °C en atmósfera inerte (nitrógeno) y desde 600°C hasta 750°C en atmósfera oxidante.

- TA Inst. Q5000

Análisis térmico: DSC.

Muestras en polvo (2-5 mg) selladas en cápsulas de aluminio. Velocidad de barrido habitual

10°C/min. La Tg ha sido calculada como el punto medio de altura del salto de capacidad calorífica. Los picos han sido calculados en el máximo de la transición.

- TA Ins. Q20 y Q2000 (DSC)