

**UNIVERSIDAD CENTRAL DE VENEZUELA
FACULTAD DE CIENCIAS
ESCUELA DE QUÍMICA**



**TRABAJO ESPECIAL DE GRADO
“SÍNTESIS EN FASE SÓLIDA DE UN MATERIAL HÍBRIDO PÉPTIDO-POLÍMEROS
ACRÍLICOS”**

Trabajo Especial de Grado
presentado ante la Ilustre
Universidad Central de Venezuela,
por el Br. Luis Fernando Castillo Lezama,
para optar al título de Licenciado en
Química

Caracas, Mayo de 2010

Yo, Profesor Carlos Chinaa, Investigador del Laboratorio de Polímeros de la Escuela de Química de la Universidad Central de Venezuela.

Certifico que el presente Trabajo Especial de Grado titulado:

**“SÍNTESIS EN FASE SÓLIDA DE UN MATERIAL HÍBRIDO PÉPTIDO-POLÍMEROS
ACRÍLICOS”**

Que presenta el Br. Luis Fernando Castillo Lezama, para aspirar al título de licenciado en Química, ha sido realizado en el Laboratorio de Polímeros de la Escuela de Química de la Universidad Central de Venezuela, bajo mi dirección, durante los años 2009 y 2010, y con esta fecha autorizo su presentación.

Caracas, Mayo de 2010

Dr. Carlos Chinaa

Los abajo firmantes designados por la Universidad Central de Venezuela, como integrantes del jurado examinador del Trabajo Especial de Grado titulado: "SÍNTESIS EN FASE SÓLIDA DE UN MATERIAL HÍBRIDO PÉPTIDO-POLÍMEROS ACRÍLICOS". Presentado por el Br. Luis Fernando Castillo Lezama, certificamos que este trabajo cumple con los requisitos exigidos por nuestra Magna Casa para optar por el título de Licenciado en Química.

Dr. Carlos Chinaea
(Director)

Dra. María Rodríguez
(Jurado)

Dr. Cristian Puig
(Jurado)

AGRADECIMIENTOS

A Dios, por darme la vida, la familia, los amigos y las oportunidades y retos a lo largo de mi vida.

A la Universidad Central de Venezuela, por permitirme formarme como profesional dentro de sus aulas.

A mi familia, que sin su apoyo y confianza no hubiese logrado esta meta. Mi mamá Yolanda, mi papá Arturo y mi hermano Carlos, por siempre creer en mí. Gracias y mil gracias de nuevo, sin ellos no sería la persona que soy.

A mi querida gran amiga Andreina, por ser tan especial y siempre mostrarme su apoyo incondicional. A los amigos que han estado conmigo a través de toda la carrera, Matute, Arian, Victor, Alvaro, Maribel y Sacha, por tantas tardes de risas, juegos de cartas y estudio. A Irving, Julian y Leandro, por todas las tardes de ocio en los banquitos de la escuela. A Virginia, Karina, Mario, Jennifer, Daniel, Angie, Rafa.

A mi novia bella Geraldine, la mujer que me ha enseñado el significado de la palabra amor, que desde que conocí ha estado a mi lado brindándome siempre su amor y apoyo.

A mi tutor, el Dr. Carlos China, por darme la oportunidad de realizar mi trabajo de grado en el Laboratorio de Polímeros.

A los diferentes profesores que de una u otra manera fueron de gran ayuda a lo largo de mi carrera. A los profesores Mary Lorena Araujo, José Daniel Martínez y Juan Álvarez.

A todos los compañeros del Laboratorio de Polímeros, Fabiola, Mariale, Janeth, Ana, Verónica y Carmen, por todas las tardes de apoyo mutuo y risas que pasamos juntos.

A mis amigos de El Marqués, que siempre me han apoyado cuando lo he necesitado. A mi mejor amigo Javier, a Jesús, Leo, Rafael, Gustavo, la morocha, Roxy, Andreina, Jean Pierre.

A todos aquellos de que alguna forma han influido en mí a través de estos años de carrera y han contribuido a la realización de este trabajo.

RESUMEN

Se planteó la síntesis de un material híbrido péptido-polímero acrílico por medio de la técnica de síntesis en fase sólida, para lo cual se sintetizó un copolímero de estireno-divinilbenceno (S-DVB) como soporte sólido en el proceso, obteniéndose 61,4900 g del mismo. El S-DVB fue funcionalizado con clorometil metil éter (CME), para lo cual fueron sintetizados previamente 65,3 mL del éter; para producir de esta manera 5,2407 g de la resina de Merrifield. Debido a varios factores, no fue posible anclar el primer aminoácido protegido (glicina-FMOC) a la resina sintetizada, por lo cual se decidió utilizar una resina comercial como lo es la resina de 2-clorotritilo. A partir de esta resina se logró la síntesis en fase sólida de un tripéptido de glicina, tras lo cual fue anclado un iniciador para ATRP como el cloruro de cloroacetilo, del cual fueron sintetizados previamente 5,1 mL. Seguidamente se realizó la polimerización del 2-hidroxietil acrilato para obtener el producto resina-péptido-poli(2-hidroxietil acrilato). Por último, se realizó el clivaje del material híbrido de la resina, obteniéndose el producto deseado, Gly-Gly-Gly-poli(2-hidroxietil acrilato), siendo éste unas gotas de aceite denso de color marrón claro. Este producto sólo pudo ser caracterizado por FTIR.

ÍNDICE GENERAL

INTRODUCCIÓN	1-3
REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA	4
CAPÍTULO I	4
I.1. DESCRIPCIÓN GENERAL DE LOS POLÍMEROS	4
I.1.1. HOMOPOLÍMEROS Y COPOLÍMEROS	5
I.1.2. TÉCNICAS DE POLIMERIZACIÓN	8
I.1.2.1. POLIMERIZACIÓN EN MASA	8
I.1.2.2. POLIMERIZACIÓN EN DISOLUCIÓN	8
I.1.2.3. POLIMERIZACIÓN EN EMULSIÓN	9
I.1.2.4. POLIMERIZACIÓN EN SUSPENSIÓN	9
CAPÍTULO II	10
II.1. POLIMERIZACIÓN POR RADICALES LIBRES	10
II.1.1. PASOS FUNDAMENTALES EN LAS REACCIONES DE RADICALES LIBRES	12
II.1.1.1. INICIACIÓN	12
II.1.1.2. PROPAGACIÓN	13
II.1.1.3. TERMINACIÓN	13
CAPÍTULO III	14
III.1. POLIMERIZACIÓN POR TRANSFERENCIA ATÓMICA DE RADICALES (ATRP).	14
III.1.1. ATRP NORMAL E INVERSA	15
III.1.2. COMPONENTES BÁSICOS A SER CONSIDERADOS EN ATRP	15
III.1.2.1. MONÓMEROS	15

2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS	43
METODOLOGÍA EXPERIMENTAL	44
EQUIPOS UTILIZADOS	44
SOLVENTES	46
1. SÍNTESIS DE UN COPOLÍMERO DE ESTIRENO-DIVINILBENCENO (S-DVB)	47
2. SÍNTESIS DEL CLOROMETIL METIL ÉTER (CME)	49
3. FUNCIONALIZACIÓN DE LA RESINA CON EL CME	50
4. SÍNTESIS DE UN PÉPTIDO DE CADENA CORTA	51
4.1. ANCLAJE DEL PRIMER AMINOÁCIDO. SÍNTESIS DE RESINA-GLY-FMOC	51
4.2. DESPROTECCIÓN DEL PRIMER AMINOÁCIDO. SÍNTESIS DE RESINA-GLY	53
4.3. ANCLAJE DEL SEGUNDO AMINOÁCIDO. SÍNTESIS DE RESINA-GLY-GLY-FMOC	54
4.4. DESPROTECCIÓN DEL SEGUNDO AMINOÁCIDO. SÍNTESIS DE GLY-GLY	55
4.5. ANCLAJE DEL TERCER AMINOÁCIDO. SÍNTESIS DE RESINA-GLY-GLY-GLY-FMOC	56
4.6. DESPROTECCIÓN DEL TERCER AMINOÁCIDO. SÍNTESIS DE RESINA-GLY-GLY-GLY	57
4.7. SÍNTESIS DEL INICIADOR CLORURO DE CLOROACETILO	57

4.8. ANCLAJE DEL INICIADOR A LA RESINA. SÍNTESIS DE RESINA-GLY-GLY-GLY-CLOROACETILO	58
5. SÍNTESIS DE UN MATERIAL HÍBRIDO PÉPTIDO-POLÍMEROS ACRÍLICOS ACRÍLICOS	59
5.1. PURIFICACIÓN DEL CLORURO DE COBRE (I)	59
5.2. PURIFICACIÓN DEL MONÓMERO 2-HIDROXIETIL ACRILATO	59
5.3. POLIMERIZACIÓN DEL 2-HIDROXIETIL ACRILATO. SÍNTESIS DE RESINA-PÉPTIDO-POLÍMERO ACRÍLICO	60
5.4. CLIVAJE DEL MATERIAL HÍBRIDO PÉPTIDO-POLÍMERO DE LA RESINA	61
RESULTADOS Y DISCUSIONES	62
1. SÍNTESIS DE UN COPOLÍMERO DE ESTIRENO-DIVINILBENCENO (S-DVB)	62
1.1. CARACTERIZACIÓN MORFOLÓGICA DE LA RESINA	63
2. SÍNTESIS DEL CLOROMETIL METIL ÉTER (CME)	65
3. FUNCIONALIZACIÓN DE LA RESINA CON EL CME	67
4. SÍNTESIS DE UN PÉPTIDO DE CADENA CORTA	69
4.1. ANCLAJE DEL PRIMER AMINOÁCIDO. SÍNTESIS DE RESINA-GLY-FMOC	69
4.2. DESPROTECCIÓN DEL PRIMER AMINOÁCIDO. SÍNTESIS DE RESINA-GLY	73
4.3. ANCLAJE DEL SEGUNDO AMINOÁCIDO. SÍNTESIS DE RESINA-GLY-GLY-FMOC	75

4.4. DESPROTECCIÓN DEL SEGUNDO AMINOÁCIDO. SÍNTESIS DE GLY-GLY	77
4.5. ANCLAJE DEL TERCER AMINOÁCIDO. SÍNTESIS DE RESINA-GLY-GLY-GLY-FMOC	79
4.6. DESPROTECCIÓN DEL TERCER AMINOÁCIDO. SÍNTESIS DE RESINA-GLY-GLY-GLY	81
4.7. SÍNTESIS DEL INICIADOR CLORURO DE CLOROACETILO	83
4.8. ANCLAJE DEL INICIADOR A LA RESINA. SÍNTESIS DE RESINA-GLY-GLY-GLY-CLOROACETILO	85
5. SÍNTESIS DE UN MATERIAL HÍBRIDO PÉPTIDO-POLÍMEROS ACRÍLICOS ACRÍLICOS	87
5.1. PURIFICACIÓN DEL CLORURO DE COBRE (I)	87
5.2. PURIFICACIÓN DEL MONÓMERO 2-HIDROXIETIL ACRILATO	88
5.3. POLIMERIZACIÓN DEL 2-HIDROXIETIL ACRILATO. SÍNTESIS DE RESINA-PÉPTIDO-POLÍMERO ACRÍLICO	90
5.4. CLIVAJE DEL MATERIAL HÍBRIDO PÉPTIDO-POLÍMERO DE LA RESINA	92
CONCLUSIONES	97
RECOMENDACIONES	98
BIBLIOGRAFÍA	99-103
ANEXOS	104-114

ÍNDICE DE ESQUEMAS

Esquema 1. Síntesis del homopolímero de polipropileno.	6
Esquema 2. Descomposición térmica del azobisisobutironitrilo.	12
Esquema 3. Descomposición del iniciador para obtener dos radicales libres que reaccionan con el doble enlace vinílico para formar el primer radical de monómero.	12
Esquema 4. Propagación de la cadena monomérica inicial.	13
Esquema 5. (a) Mecanismo de combinación de dos radicales para originar una sola molécula. (b) Mecanismo de desproporción de radicales, a partir de dos radicales se obtiene dos moléculas, una saturada y otra insaturada.	13
Esquema 6. Mecanismo general de la ATRP.	14
Esquema 7. Algunas reacciones que puede experimentar el S-DVB.	23
Esquema 8. Reacción alternativa que puede ocurrir durante la clorometilación.	23
Esquema 9. Síntesis de un péptido por pasos.	27
Esquema 10. (a) Síntesis convergente de péptidos protegidos. (b) Ligación quimioselectiva de fragmentos peptídicos desprotegidos.	28-29
Esquema 11. Ensamblaje directo de péptidos.	30

Esquema 12. Mecanismo de formación de la oxazolona.	34
Esquema 13. Mecanismo formación del enlace peptídico a través de la activación del grupo carboxilo con DCC.	35
Esquema 14. Síntesis del PTD- <i>b</i> -PAA y PTD- <i>b</i> -PAA- <i>b</i> -PMA.37	
Esquema 15. Síntesis de un copolímero híbrido en bloque de polietilenglicol conteniendo β -extensiones anfifílicas de una secuencia peptídico.	38
Esquema 16. Síntesis de un material híbrido GRGDS-PHEMA.	41
Esquema 17. Síntesis del copolímero estireno-divinilbenceno (S-DVB).	47
Esquema 18. Síntesis del agente funcionalizante clorometil metil éter (CME).	49
Esquema 19. Reacción de funcionalización del S-DVB con el CME.	50
Esquema 20. Anclaje del primer aminoácido. Síntesis de resina-Gly-FMOC.	52
Esquema 21. Desprotección del primer aminoácido. Síntesis de resina-Gly.	54
Esquema 22. Anclaje del segundo aminoácido. Síntesis de resina-Gly-Gly-FMOC.	55
Esquema 23. Desprotección del segundo aminoácido. Síntesis de resina-Gly-Gly.	56
Esquema 24. Anclaje del tercer aminoácido. Síntesis de resina-Gly-Gly-Gly-FMOC.	56
Esquema 25. Desprotección del tercer aminoácido. Síntesis de resina-Gly-Gly-Gly.	57

Esquema 26. Síntesis del indicador cloruro de cloroacetilo.	58
Esquema 27. Anclaje del iniciador a la resina. Síntesis de resina-Gly-Gly-Gly-cloroacetilo.	59
Esquema 28. Síntesis de resina-Gly-Gly-Gly-poli(2-hidroxietil acrilato).	60
Esquema 29. Clivaje del material híbrido desde la resina. Síntesis de Gly-Gly-Gly-poli(2-hidroxietil acrilato).	61

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Estabilización por resonancia del radical formado después de la adición en el poliestireno.	7
Figura 2. Algunos de los iniciadores del tipo α -haloésteres utilizados en ATRP.	18
Figura 3. Algunos complejos de cobre utilizados como catalizadores en ATRP.	21
Figura 4. Copolímero de estireno-divinilbenceno.	22
Figura 5. Formación de los poros en la resina una vez realizada la extracción con tolueno.	24
Figura 6. Grupos protectores más comunes.	32
Figura 7. Aminas terciarias utilizadas en la inserción del grupo protector de los aminoácidos.	33
Figura 8. Modelo para la organización a escala nanométrica de los copolímeros en bloque 1 y 3.	39
Figura 9. Montaje tipo soxhlet para la extracción del poliestireno contenido en la resina.	48
Figura 10. Montaje experimental para la síntesis del CME.	49
Figura 11. Morfología del copolímero S-DVB sintetizado.	63

Figura 12. Distribución de tamaño de la resina.	64
Figura 13. Superficie de la resina: A) antes de la extracción con tolueno y B) después de la extracción con tolueno.	65
Figura 14. Gráfico de deconvolución del espectro del material híbrido en un rango de 1900 a 1500 cm^{-1} .	95
Figura 15. Copolímero de estireno-divinilbenceno (S-DVB) sintetizado.	104
Figura 16. Espectro de FTIR del copolímero estireno-divinilbenceno (S-DVB).	104
Figura 17. Espectro de FTIR del clorometil metil éter (CME) sintetizado.	105
Figura 18. Resina de Merrifield sintetizada.	105
Figura 19. Espectro de la resina de Merrifield sintetizada.	106
Figura 20. Gráfica de los potenciales de los patrones de Cl preparados.	106
Figura 21. Espectro de FTIR de la resina de Merrifield después del anclaje del primer aminoácido.	107
Figura 22. Espectro de FTIR de la resina 2-clorotritilo después del anclaje del primer aminoácido.	107
Figura 23. Ecuación para la determinación del contenido de aminoácido en la resina.	108
Figura 24. Espectro de FTIR una vez bloqueados los sitios activos.	108
Figura 25. Espectro de FTIR después de la desprotección del	

primer aminoácido anclado.	109
Figura 26. Espectro de FTIR después del anclaje del segundo aminoácido.	109
Figura 27. Espectro de FTIR después de la desprotección del segundo aminoácido.	110
Figura 28. Espectro de FTIR después del anclaje del tercer aminoácido.	110
Figura 29. Espectro de FTIR después de la desprotección del tercer aminoácido.	111
Figura 30. Espectro de FTIR del iniciador cloruro de cloroacetilo.	111
Figura 31. Espectro de FTIR después del anclaje del iniciador a la resina-péptido.	112
Figura 32. Cloruro de Cobre (I): A) antes de purificar y B) después de purificar.	112
Figura 33. Espectro de FTIR del monómero una vez purificado.	113
Figura 34. Espectro de FTIR después de la polimerización del monómero.	113
Figura 35. Espectro de FTIR del material híbrido péptido-polímero acrílico.	114

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Señales observadas en el espectro de FTIR del copolímero estireno-divinilbenceno (S-DVB)	62
Tabla 2. Señales observadas en el espectro de FTIR para el clorometil metil éter (CME).	66
Tabla 3. Señales observadas para el espectro de FTIR del S-DVB funcionalizado con el CME.	68
Tabla 4. Señales observadas en el espectro de FTIR para el anclaje del primer aminoácido en la resina de Merrifield sintetizada.	70
Tabla 5. Señales observadas en el espectro de FTIR para el anclaje del primer aminoácido en la resina 2-clorotritilo.	72
Tabla 6. Señales observadas en el espectro de FTIR de la desprotección del primer aminoácido anclado.	74
Tabla 7. Señales observadas en el espectro de FTIR para el anclaje del segundo aminoácido en la resina 2-clorotritilo.	76
Tabla 8. Señales Observadas en el espectro de FTIR para la desprotección del segundo aminoácido anclado.	78
Tabla 9. Señales observadas en el espectro de FTIR para el anclaje del tercer aminoácido en la resina 2-clorotritilo.	80
Tabla 10. Señales observadas en el espectro de FTIR para la desprotección del tercer aminoácido anclado.	82

Tabla 11. Señales observadas en el espectro de FTIR para la síntesis del iniciador cloruro de cloroacetilo.	84
Tabla 12. Señales observadas en el espectro de FTIR para el anclaje del iniciador a la resina-péptido.	86
Tabla 13. Señales observadas en el espectro de FTIR para la purificación del monómero 2-hidroxietil acrilato.	89
Tabla 14. Señales observadas en el espectro de FTIR para la polimerización del monómero en la resina-péptido-iniciador.	91
Tabla 15. Señales obtenidas en el espectro de FTIR para el clivaje del material híbrido péptido-polímero desde la resina.	93
Tabla 16. Descripción de las curvas obtenidas a través de la deconvolución del espectro del material híbrido.	96

INTRODUCCIÓN

El desarrollo de los materiales poliméricos ha ido en constante aumento desde mediados de 1930, esto debido a su gran utilidad así como la facilidad con la cual pueden ser sintetizados y “construidos” según sean los requerimientos.

El desarrollo de diferentes métodos de polimerización ha permitido la fabricación de un rango cada vez más amplio de nuevos materiales, que destacan por sus propiedades mecánicas, físicas, térmicas, ópticas y biológicas. Uno de los métodos más utilizados para la producción de polímeros a gran escala ha sido la polimerización por radicales libres, pero, lamentablemente, el control en el índice de polidispersidad suele ser muy bajo. Para solucionar este inconveniente, Matijaszweski y colaboradores,^{[1],[2]} desarrollaron la polimerización por transferencia atómica de radicales (ATRP), que ofrece grandes mejoras con respecto al índice de polidispersidad resultante, así como un mayor control sobre la distribución espacial del polímero producto. Por esto, esta técnica ha permitido, en los últimos años, la polimerización de una gran variedad de monómeros (homopolímeros y copolímeros), las cuales, por métodos tradicionales, requieren de un estricto control de las condiciones de reacción para poder obtenerse.

La síntesis de algunos polímeros biocompatibles se ha visto mejorada o beneficiada con el desarrollo de la ATRP, ya que la misma, permite la fácil polimerización de monómeros como el metilmetacrilato y el 2-hidroxietilmetilacrilato,^{[1],[3],[4]} los cuales presentan buenas propiedades biodegradables y son ampliamente utilizados como biomateriales.

Según su aplicación, los polímeros biodegradables deben cumplir con varias exigencias, como lo son: alta resistencia mecánica para soportar esfuerzos en una prótesis; relativa flexibilidad, tratándose de una articulación; alta tenacidad, resistencia

al desgaste y a la fatiga en implantes permanentes; ser absorbibles por el organismo en suturas o liberadores de fármacos (medicación controlada).^[5]

La capacidad para sintetizar tanto homopolímeros como copolímeros ha dado lugar al surgimiento de gran variedad de materiales con múltiples usos. Uno de los tantos copolímeros existentes es el perteneciente al estireno-divinilbenceno, que sirve de soporte sólido en reacciones de síntesis orgánica. La ventaja en el uso de los soportes sólidos radica en la facilidad con la cual el producto deseado puede ser filtrado y lavado, con pérdidas mínimas o sin pérdidas del mismo; además se obtienen altos rendimientos de reacción, siendo, en muchas etapas de la síntesis, prácticamente cuantitativos.

A mediados de 1960, Merrifield,^[6] utilizó por primera vez los soportes sólidos en la síntesis de péptidos, dando origen al nacimiento de una nueva área de la química que ha ido progresando continuamente con el paso del tiempo. La importancia de la síntesis de péptidos es lograr recrear el ambiente y estructura de las proteínas dentro del organismo, su comportamiento e interacciones. De esta forma, la síntesis de péptidos se ha convertido en una rama muy importante tanto de la medicina como de la bioquímica.

Con el desarrollo de los polímeros biodegradables, se inició la síntesis de materiales híbridos péptido-polímero tanto hidrofílicos como anfifílicos, los cuales presentan diversas propiedades, como lo son adhesión y extensión celular, biocompatibilidad, resistencia mecánica, entre otras.

La síntesis de estos materiales ha sido llevada a cabo por diversos métodos, siendo uno de los más comunes la síntesis en fase sólida de péptidos y posteriormente la síntesis de polímero a partir del péptido anclado en la resina.^{[7]-[9]} La síntesis del polímero se ha realizado a través de diferentes procedimientos, como la polimerización

de radicales por medio de nitróxido (NMRP) y la ATRP, siendo esta última la más utilizada, debido a su sencillez, bajo costo y facilidad en el control de las condiciones de reacción.

El campo de estudio de estos materiales es muy amplio, y su desarrollo aún está en proceso, así como su caracterización de acuerdo a las propiedades biológicas que pueden exhibir. Es por estas razones que el presente trabajo de investigación tiene como finalidad la síntesis en fase sólida de un material híbrido péptido-polímeros acrílicos, utilizando una resina de estireno-divinilbenceno como soporte sólido. La polimerización de los monómeros acrílicos será llevada a cabo mediante ATRP normal. El producto final así como los intermediarios obtenidos será caracterizado por microscopía electrónica, IR, RMN-¹³C y RMN-¹H, según sea el caso.

REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

CAPÍTULO I

I.1. DESCRIPCIÓN GENERAL DE LOS POLÍMEROS

Según la definición ofrecida por Billmeyer,^[10] un polímero es una molécula construida por la repetición de pequeñas y simples unidades químicas. En algunos casos la repetición es lineal, como las cadenas construidas y enlazadas por sus extremos. En otros casos, las cadenas están ramificadas o interconectadas formando redes tridimensionales (polímeros entrecruzados). La unidad repetitiva del polímero es usualmente equivalente o cercanamente equivalente al monómero, o material de partida del cual está constituido el polímero.

Si el número de unidades es muy grande, se usa también la expresión gran polímero. Un polímero no tiene la necesidad de constar de moléculas individuales todas del mismo peso molecular y no es necesario que todas tengan la misma composición química y la misma estructura molecular. Hay polímeros naturales como ciertas proteínas globulares y polícarbohidratos, cuyas moléculas individuales poseen todas el mismo peso y estructura molecular; pero la gran mayoría de los polímeros sintéticos y naturales importantes son mezclas de componentes poliméricos homólogos. La pequeña variabilidad en la composición química y en la estructura molecular es el resultado de la presencia de grupos finales, ramas ocasionales, variaciones en la orientación de unidades monoméricas y la irregularidad en el orden en el que se suceden los diferentes tipos de esas unidades en los copolímeros. Existen tres tipos diferentes de polímeros de acuerdo a su origen:

- **Polímeros naturales:** provenientes directamente del reino vegetal o animal. Por ejemplo: celulosa, almidón, proteínas, caucho natural, ácidos nucleicos, etc.
- **Polímeros artificiales:** son el resultado de modificaciones mediante procesos químicos, de ciertos polímeros naturales. Ejemplo: nitrocelulosa, etonita, etc.
- **Polímeros sintéticos:** son los que se obtienen por procesos de polimerización controlados por el hombre a partir de materias primas de bajo peso molecular. Ejemplo: nylon, polietileno, cloruro de polivinilo, etc.

Los polímeros pueden clasificarse, según sus propiedades físicas en:

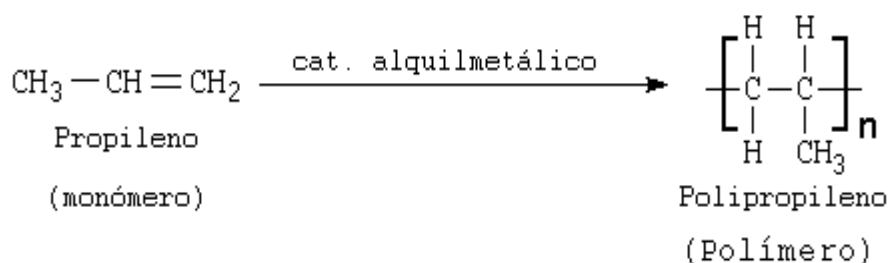
- a) Elastómeros
- b) Termoplásticos
- c) Termoestables.

Los elastómeros y termoplásticos están constituidos por cadenas largas que poseen poco entrecruzamiento entre sí; cuando son sometidos a calentamiento, se ablandan y pueden ser moldeados nuevamente, mientras que los polímeros termoestables se preparan a partir de sustancias de pesos moleculares no muy altos, las cuales alcanzan, cuando se someten a procesos adecuados, un alto grado de entrecruzamiento molecular, que funden con descomposición o no funden y son generalmente insolubles en los solventes más usuales.

I.1.1. HOMOPOLÍMEROS Y COPOLÍMEROS

Dentro de los polímeros existen dos grandes ramas de acuerdo a la composición de los mismos, en donde tenemos los homopolímeros y los copolímeros. Los materiales como el polietileno, el policloruro de vinilo, el polipropileno y otros que contienen una sola unidad estructural, se llaman homopolímeros, como se ilustra en el esquema 1. Los

homopolímeros, además, contienen cantidades menores de irregularidades en los extremos de la cadena o ramificaciones.



Esquema 1. Síntesis del homopolímero de polipropileno.

Por otro lado los copolímeros contienen varias unidades estructurales, como es el caso de algunos muy importantes en los que participa el estireno. Estas combinaciones de monómeros se realizan para modificar las propiedades de los polímeros y lograr nuevas aplicaciones. Lo que se busca es que cada monómero imparta una de sus propiedades al material final. Evidentemente al variar las proporciones de los monómeros, las propiedades de los copolímeros van variando también, de manera que el proceso de copolimerización permite hasta cierto punto fabricar polímeros a la medida. En ocasiones se mezclan para mejorar alguna propiedad, aunque generalmente a expensas de otra.

La reactividad de los monómeros y radicales en un proceso de copolimerización está determinada por la naturaleza del grupo sustituyente sobre el doble enlace del monómero vinílico. Estos sustituyentes pueden ejercer influencia sobre la reactividad de tres formas: pueden activar el doble enlace, ocasionando que el monómero se vuelva más reactivo; pueden estabilizar por resonancia el radical generado, o pueden presentar impedimentos estéricos en el lugar en donde ocurre la reacción.

La efectividad de los sustituyentes en incrementar la reactividad de los monómeros sigue un orden, el cual es: $-\text{C}_6\text{H}_5 > -\text{CH}=\text{CH}_2 > -\text{COCH}_3 > -\text{CN} > -\text{COOR} > -\text{Cl} > -\text{CH}_2\text{Y} > -\text{OCOCH}_3 > -\text{OR}$ ^[11]

El efecto de un segundo sustituyente sobre el mismo átomo de carbono usualmente es aditivo.

Este orden de reactividad corresponde a la estabilización por resonancia del radical formado después de la adición.^[12] En el caso del estireno el radical puede hacer resonancia dentro del anillo aromático, según puede observarse en la figura 1.

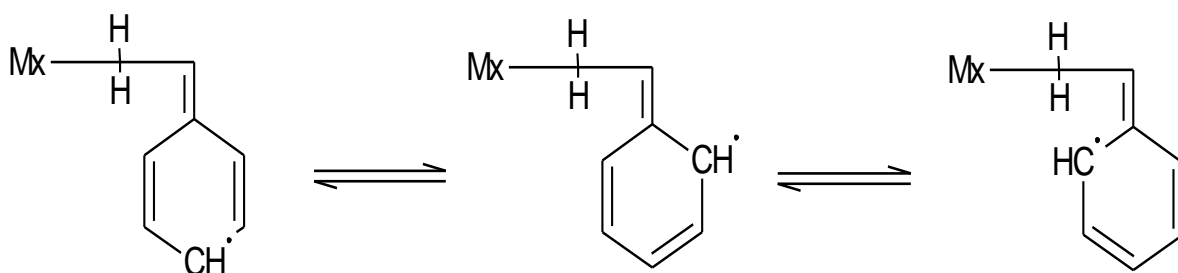


Figura 1. Estabilización por resonancia del radical formado después de la adición en el poliestireno.

El radical es estabilizado por una energía de resonancia aproximada de 20 Kcal/mol. Por el otro lado, los sustituyentes en los cuales no existen dobles enlaces conjugados con el doble enlace etilénico proporcionan radicales con una baja energía de resonancia (1-4 Kcal/mol).^[12]

La estabilización por resonancia disminuye la reactividad de los radicales, así que el orden de su reactividad es el inverso que el de sus monómeros, por lo cual el estireno es uno de los menos reactivos mientras que el comportamiento inverso lo experimenta el acetato de vinilo. El efecto de los sustituyentes en disminuir la actividad del radical es mucho mayor que el efecto de aumentar la actividad del monómero.^[12]

Los efectos de impedimentos estéricos en la reducción de la reactividad dependen de la diferencias de energía entre las formas *cis* y *trans* en las posibles resonancias que pueden experimentar.^[12]

I.1.2. TÉCNICAS DE POLIMERIZACIÓN

Para la preparación tanto de homopolímeros como de copolímeros se disponen de varias técnicas de polimerización, las cuales son:

I.1.2.1. POLIMERIZACIÓN EN MASA

En una técnica simple, llevada a cabo en un medio homogéneo, donde sólo el monómero y el iniciador se encuentran presentes en el sistema. Puede ser iniciada térmicamente o por radiación, aún así, sólo habrá monómero en el medio de reacción. Por lo tanto, es una técnica económica que además puede producir polímeros con un alto grado de pureza. Este tipo de polimerización es altamente exotérmica cuando se desea preparar polímeros del tipo vinílico, lo que conlleva usualmente a la descomposición del iniciador, alcanzando un punto en el cual la velocidad de reacción es fuertemente dependiente de la temperatura. Esto sumado al problema en la transferencia de calor ocasionada debido al aumento de la viscosidad en el inicio de la reacción, conducen a dificultades en el control de la temperatura y a una tendencia al desarrollo de puntos sobrecalentados, que dan un color amarillento no deseado al producto. Excepto en casos especiales, la polimerización en masa es raramente utilizada para la preparación de polímeros vinílicos.^[13]

I.1.2.2. POLIMERIZACIÓN EN DISOLUCIÓN

En este tipo de polimerización, además del monómero y el iniciador, se emplea un disolvente en el cual ambos son miscibles, formando un sistema homogéneo. El solvente utilizado debe poseer un bajo punto de fusión, y debe ser de fácil separación

del producto final. Una vez finalizada esta técnica, el polímero formado puede ser soluble o no en el solvente. Si el polímero es insoluble, se obtiene líquido viscoso que puede ser filtrado para la separación del polímero. En caso de ser soluble, se puede utilizar un solvente que cambie la polaridad del medio para lograr la precipitación del producto en forma de fibras o polvo. Debido a la fácil agitación del sistema, se puede lograr una temperatura homogénea a lo largo del sistema, lo cual evita la formación de puntos sobrecalentados.

I.1.2.3. POLIMERIZACIÓN EN EMULSIÓN

Es una polimerización heterogénea llevada a cabo en medio líquido, que requiere de una serie de aditivos con funciones específicas como emulsificantes, tamponadores de pH , reguladores de tensión superficial, reguladores de polimerización y activadores. En esta polimerización, el iniciador es soluble en agua, mientras que el monómero no. El emulsificante tiene como objetivo formar micelas, de tamaño comprendido entre 1 nm y 1mm, en las cuales el monómero queda contenido. Algunas micelas son activas, es decir, la reacción de polimerización se ocurre dentro de las mismas, mientras que otras son inactivas (gotas de monómeros), constituyendo apenas una fuente de monómero. A medida que la reacción ocurre, las micelas inactivas suplen a las activas con monómero, que crecen hasta formar gotas de polímero, originando posteriormente el producto sólido. La polimerización en emulsión tiene una alta velocidad de reacción y conversión, siendo de fácil control de agitación y temperatura. Los polímeros obtenidos con esta técnica presentan altos pesos moleculares, pero son de difícil purificación debido a la cantidad de aditivos agregados.

I.1.2.4. POLIMERIZACIÓN EN SUSPENSIÓN

La polimerización en suspensión, también conocida como polimerización en perlas, por la forma como los polímeros son obtenidos, es una polimerización heterogénea donde el monómero y el iniciador son insolubles en el medio dispersante,

en general el agua. La polimerización ocurre dentro de las partículas en suspensión donde se encuentran el monómero y el iniciador. La agitación del sistema es un factor muy importante en esta técnica, pues según la velocidad de agitación empleada, varía el tamaño de las partículas. La dispersión del monómero en pequeñas gotas, generalmente con un diámetro entre 0,01-0,5 cm, es preservada por la combinación de agitación y el uso de estabilizantes solubles en agua. ^[13] Estos agentes estabilizantes o tensoactivos son sustancias químicas que auxilian en la suspensión del polímero formado, evitando la adhesión entre las partículas y, como consecuencia, la precipitación del polímero sin la formación de las perlas. Un agente muy utilizado es el alcohol polivinílico.

CAPÍTULO II

II.1. POLIMERIZACIÓN POR RADICALES LIBRES

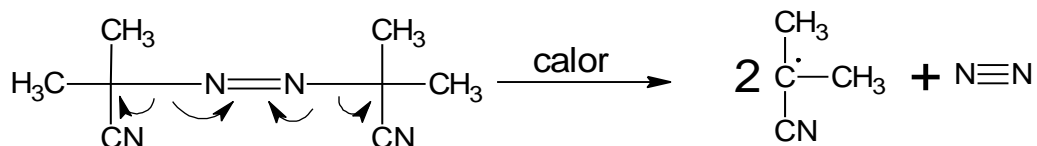
La polimerización de monómeros insaturados normalmente incluye una reacción en cadena. Ésta puede ser iniciada por métodos típicos para reacciones en cadena en fase gas, incluyendo la acción de luz ultravioleta. Es susceptible a retardación e inhibición. En una polimerización típica de cadena, un paso de iniciación puede conducir a la polimerización de cientos de moléculas de monómeros.

Las características de la polimerización en cadena sugieren que el centro activo responsable del crecimiento de la misma está asociado con una sola molécula de polímero a través de la adición sucesiva de una gran cantidad de unidades de monómero. Además, las moléculas de polímero son formadas desde el inicio de la reacción, y casi no se observa ninguna especie intermedia entre el monómero y el polímero de alto peso molecular encontrado. Se han postulado una variedad de centros activos, de los cuales tres han sido hallados de manera experimental: catión, anión y

radical libre. ^[14] Flory demostró de manera concluyente, a través de sus estudios en la cinética de la polimerización de monómeros vinílicos, que la propagación por radicales libres ocurre y que la misma requiere de los pasos de iniciación, propagación y terminación típicos de una reacción en cadena de especies de bajo peso molecular. ^[15]

Muchos de los compuestos orgánicos involucran enlaces covalentes. Los enlaces covalentes simples poseen electrones de enlace los cuales están distribuidos dentro de volumen considerable de espacio entre los dos núcleos y se encuentran simétricamente ubicados dentro de la línea que conecta a dichos núcleos. En un doble enlace, la presencia de un segundo par de electrones modifica la simetría axial, y por consiguiente el volumen dentro del cual los electrones son encontrados entre los núcleos. Como resultado de esto, existe una barrera energética alta que previene e impide la libre rotación, y por lo tanto, los isómeros *cis* y *trans* son posibles. El hecho de que el segundo par de electrones esté sostenido sólo cerca del 70% tan firme como el primero, conduce a una alta polarizabilidad del doble enlace y a la reactividad química de los compuestos insaturados. ^[14]

Muchas reacciones orgánicas suceden a través de intermediarios que poseen un número impar de electrones, y como consecuencia, un electrón desapareado. Dichos intermediarios son conocidos como radicales libres. Pueden generarse por varios métodos, los cuales incluyen descomposición térmica de peróxidos o hidroperóxidos orgánicos como el peróxido de bencilo, y de azo o diazo compuestos como el azobisisobutironitrilo (AIBN). En el esquema 2 puede observarse un ejemplo de descomposición térmica de un iniciador como el AIBN. Otros métodos de formación de radicales libres, utilizados ocasionalmente para reacciones de polimerización, incluyen descomposición fotolítica de compuestos unidos covalentemente, disociación de enlaces covalentes por radiación de alta energía, reacciones óxido-reducción e iniciación electroquímica. ^[14]



Esquema 2. Descomposición térmica del azobisisobutironitrilo.

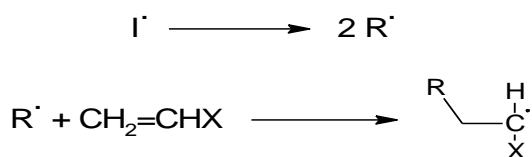
La estabilidad de los radicales varía de acuerdo al grado de sustitución de los mismos. Radicales primarios son menos estables y más reactivos que los correspondientes secundarios, los cuales a su vez son menos estables que los terciarios.^[14]

II.1.1. PASOS FUNDAMENTALES EN LAS REACCIONES DE RADICALES LIBRES

Todos los procesos en los cuales se encuentran presentes los radicales libres constan de tres pasos fundamentales, la iniciación de los radicales, la propagación de éste a través de la formación de cadenas de mayor tamaño y por último la terminación.^[14]

II.1.1.1. INICIACIÓN

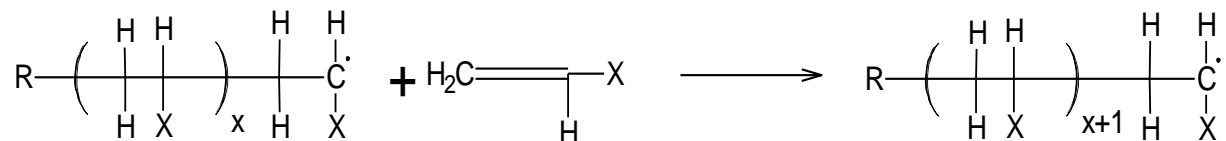
Cuando un radical libre es generado en presencia de un monómero vinílico, el primero reacciona con el doble enlace, con la subsiguiente generación de otro radical. La regeneración del radical es característica de las reacciones en cadena.



Esquema 3. Descomposición del iniciador para obtener dos radicales libres que reaccionan con el doble enlace vinílico para formar el primer radical de monómero.

II.1.1.2. PROPAGACIÓN

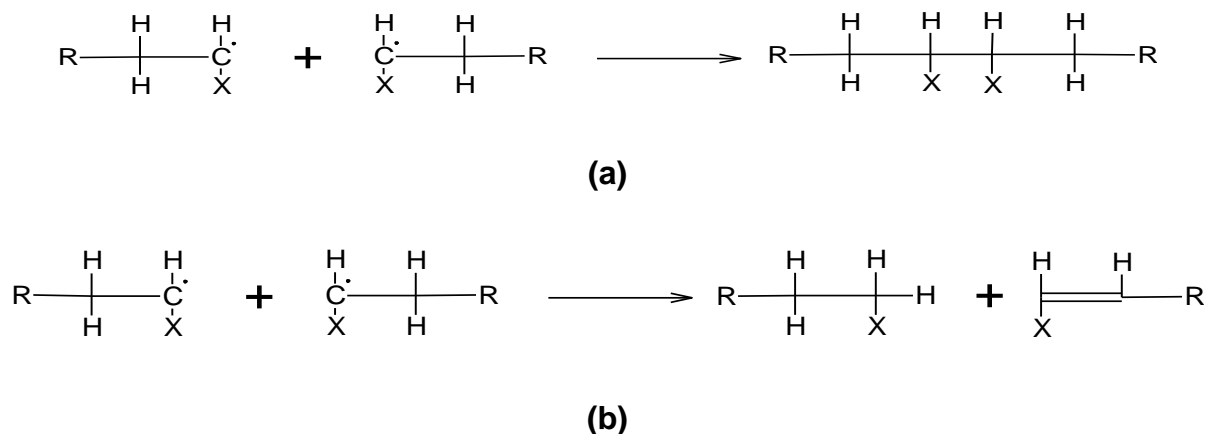
La cadena radical formada en el paso de iniciación es capaz de añadir sucesivamente unidades de monómero para propagar la cadena.



Esquema 4. Propagación de la cadena monomérica inicial.

II.1.1.3. TERMINACIÓN

La propagación puede continuar hasta que la fuente de monómero es agotada, pero esto pocas veces sucede, y lo que ocurre en general es que los radicales, debido a su fuerte tendencia a reaccionar en pares para formar electrones apareados en enlaces covalentes, finalizan la reacción por medio de dos mecanismos, la combinación y la desproporción.



Esquema 5. (a) Mecanismo de combinación de dos radicales para originar una sola molécula. **(b)** Mecanismo de desproporción de radicales, a partir de dos radicales se obtiene dos moléculas, una saturada y otra insaturada.

Sin embargo, si la ATRP es llevada a cabo bajo control de todos los factores, sólo un pequeño porcentaje de las cadenas poliméricas experimentan terminación. Típicamente, no más del 5% del total de la cadena polimérica creciente termina durante el estado inicial, no estacionario, de la polimerización. Este proceso inicial, que posee un corto período de duración, genera complejos de metales oxidados como $X-M^{n+1}$, que actúan como radicales permanentes, reduciendo la concentración de los radicales en crecimiento y, por lo tanto, minimizando la contribución a la terminación. Una ATRP exitosa no solo tendrá poca contribución a la terminación de cadenas, sino que también mostrará un crecimiento uniforme de todas las cadenas, lo cual se logra con una rápida activación y una veloz desactivación reversible.

III.1.1. ATRP NORMAL E INVERSA

En una ATRP normal, el radical inicial es generado a partir de un haluro de alquilo en presencia de un metal de transición en su estado de oxidación más bajo. Sin embargo, iniciadores de radicales más convencionales utilizados en polimerización por radicales libres pueden ser empleados. Por ejemplo, una ATRP puede ser iniciada por medio del azobisisobutironitrilo (AIBN) y el metal de transición en su estado de oxidación más alto. Éste último método para llevar a cabo ATRP ha sido llamado ATRP inverso.^{[17],[18]}

III.1.2. COMPONENTES BÁSICOS A SER CONSIDERADOS EN ATRP

III.1.2.1. MONÓMEROS

Una variedad de monómeros, como estirenos, metacrilatos, metacrilamidas, y acrilonitrilos, que contienen sustituyentes capaces de estabilizar los radicales propagantes, han sido polimerizados a través de ATRP. Incluso bajo las mismas condiciones y utilizando el mismo catalizador, cada monómero posee su propia constante de equilibrio de transferencia atómica, tanto para las especies activas como

para las inactivas. En ausencia de cualquier reacción colateral que no sea la terminación por acoplamiento o desproporción, la magnitud de la constante de equilibrio ($K_{eq} = k_{act}/k_{deact}$) determinará la velocidad de la polimerización. Si la constante de equilibrio es muy pequeña, la ATRP no ocurrirá o de hacerlo, será de forma muy lenta. Por otro lado, una constante de equilibrio muy grande, dará paso a una gran cantidad de reacciones de terminación debido a la alta concentración de radicales presentes.

- **Metilmetacrilato (MMA):**

La ATRP para metilmetacrilato ha sido reportada para diferentes metales, pero el más extensamente estudiado ha sido el sistema catalítico del cobre para diferentes condiciones de reacciones así como en el uso de una variedad de ligandos.^{[2], [19]-[22]} La polimerización del MMA, y el amplio rango de catalizadores disponibles en ATRP, se debe a la relativa facilidad de activación de la especie inactiva y a los altos valores de la constante de equilibrio. La mayoría de las polimerizaciones del MMA son llevadas a cabo en un rango de temperaturas comprendido entre 70 y 90°C. El uso de solventes se vuelve necesario a fin de solubilizar el polímero formado (PMMA), el cual posee una temperatura de transición vítrea mayor a 100°C. En condiciones normales, la constante de equilibrio de ATRP para la polimerización del MMA resulta ser alta, por lo cual se deben utilizar una alta dilución y una menor concentración del catalizador.

III.1.2.2. INICIADORES

La principal función del iniciador es determinar el número creciente de cadenas poliméricas. Si la iniciación es rápida y la terminación y transferencia despreciables, entonces el número de cadenas crecientes es constante e igual a la concentración inicial del iniciador. El grado de polimerización teórico (DP) es inversamente proporcional a la concentración inicial del iniciador en una polimerización viviente.

$$DP = [\text{monómero}]/[\text{iniciador}] \times \text{conversión}$$

En ATRP, los haluros de alquilo (RX) son ampliamente utilizados como iniciadores. También puede ser empleados como iniciadores los haluros bencílicos, los α -haloésteres, los α -halonitrilos y las α -halocetonas. Para obtener polímeros bien definidos con un rango estrecho de DP, el grupo haluro (X) debe migrar de manera rápida y selectiva entre la cadena creciente y el complejo del metal de transición. Por lo tanto, cuando el haluro es bromo o cloro, el control en el grado de polimerización es el mejor. Se ha encontrado que el yodo funciona bien para ATRP con catalizadores de cobre, pero los resultados obtenidos no llegan a ser tan buenos como los obtenidos con el cloro y el bromo. El fluoruro no es usado debido a que el enlace C-F es muy fuerte como para experimentar clivaje homolítico.

La iniciación debe ser rápida y cuantitativa. En general, cualquier haluro de alquilo con sustituyentes activantes en el C- α , como grupos arilo, carbonilo o alilo, pueden ser potencialmente utilizados como iniciadores en ATRP.

- **α -haloésteres**

Varios α -haloésteres han sido empleados satisfactoriamente en la iniciación de una ATRP bien controlada. En general, los α -haloisobutiratos producen radicales iniciales de manera más rápida que los correspondientes α -halopropionatos, debido a la mejor estabilización del radical generado después del paso de abstracción del halógeno. Si los α -bromopropionatos se utilizan para la polimerización de metacrilatos, la iniciación ocurrirá de manera muy lenta, mientras que los α -bromopropionatos son buenos iniciadores para ATRP de acrilatos debido a su parecido estructural.

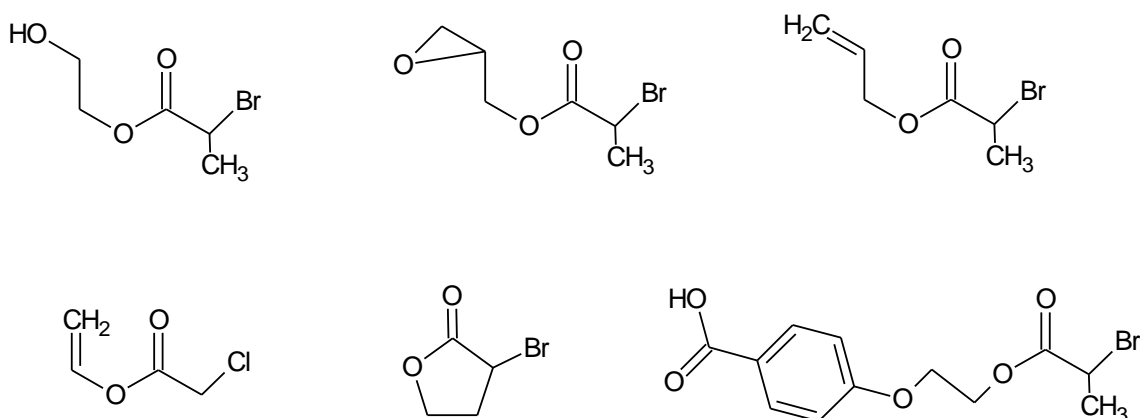


Figura 2. Algunos de los iniciadores del tipo α -haloésteres utilizados en ATRP.

III.1.2.3. CATALIZADORES

El catalizador empleado en una ATRP es uno de los componentes más importantes de la misma, ya que determina tanto la posición del equilibrio en la transferencia atómica como el intercambio dinámico entre la especie activa e inactiva. Existen algunos requisitos que debe cumplir un metal de transición para ser utilizado como catalizador, los cuales podemos resumir en:

- a) El centro metálico debe poseer por lo menos dos estados de oxidación fácilmente accesibles, separados por un electrón.
- b) El centro metálico debe tener una afinidad moderada hacia el halógeno a utilizar.
- c) La esfera de coordinación alrededor del metal debe ser expandible por la oxidación para permitir la colocación del halógeno.
- d) El ligando seleccionado debe acomplejar al metal relativamente fuerte.

Eventualmente, la posición y dinámica del equilibrio en ATRP variará de acuerdo a las condiciones empleadas. Existen numerosos metales de transición que han sido desarrollados y estudiados como catalizadores, como lo son molibdeno, cromo, rutenio, hierro, renio, níquel, paladio, rodio y cobre; quizás éste último el más estudiado y aplicado en ATRP.^[23]

- **Reacciones catalizadas por cobre**

Los catalizadores de cobre son considerados los mejores en ATRP debido a su versatilidad y bajo costo. Entre los monómeros que han sido polimerizados mediante el uso de cobre como catalizador encontramos estirenos, metacrilatos (ésteres y amidas) y acrilonitrilos. La primera catálisis con cobre en ATRP fue reportada en 1995,^[2] utilizando un sistema hexacoordinado para el centro metálico a través del uso de tres moléculas de bipyridina (bpy) además de la interacción con el halógeno respectivo. Se encontró un incremento lineal del peso molecular con la conversión, para monómeros de estireno, metilacrilato y metilmetacrilato, con una polidispersidad (M_w/M_n) entre 1,2-1,5. La polimerización fue tolerante a grupos hidroxilo (-OH) y amino (-NH₂), e insensible a aditivos, como lo son el agua (H₂O), metanol (CH₃OH) y el metanonitrilo (CH₃CN).

El rol principal que desempeña el ligando dentro de una ATRP es el de solubilizar la sal del complejo metálico en los solventes orgánicos y de ajustar el potencial redox del centro metálico para lograr una reactividad y dinámica apropiada para la transferencia atómica. Entre los ligandos más utilizados para la catálisis con cobre, encontramos aminas polidentadas tanto alifáticas como aromáticas. Inclusive, el uso de aminas alifáticas, tanto lineales como ramificadas, reducen de gran forma el costo del catalizador el incrementan notablemente la velocidad de polimerización, a la vez que mantienen un buen control en general.

- **Ligandos nitrogenados**

Los ligandos nitrogenados han sido usados ampliamente en la catálisis de la ATRP para el hierro y el cobre. Dichos ligandos funcionan muy bien con el cobre, en contrario de lo que sucede con los ligandos que contienen oxígeno, sulfuro o fósforo, los cuales son mucho menos efectivos debido a los efectos electrónicos inapropiados generados por los mismos, como puede ser el enlace irreversible de estos heteroátomos con el centro metálico, ocasionando el “envenenamiento” del catalizador. En el caso del cobre, el uso de ligandos mono, bi, tri o tetradentados ejercen un gran efecto sobre la química de coordinación del complejo de metal de transición formado, afectando sustancialmente la actividad catalítica del mismo. Es por esto que, a pesar que los ligandos monodentados son efectivos para la mayoría de las sales de transición inorgánicas empleadas en la ATRP, los mismos no promueven el control en una ATRP catalizada por cobre. Los efectos electrónicos y estéricos de los ligandos también deben ser considerados, ya que se ha encontrado una reducción de la actividad catalítica o eficiencia cuando existen grandes impedimentos estéricos por parte del ligando o posee sustituyentes fuertemente atractores de electrones.

La geometría que adopta el cobre a través de la reacción dependerá de su estado de oxidación. Así el cobre (I) adopta una configuración tetraédrica o plana cuadrada del tipo catiónica, con un ligando tetradentado, o con dos ligandos bidentados. Por otro lado, el cobre (II) forma estructuras catiónicas del tipo bipirámide trigonal, con un ligando tetradentado, o con dos ligandos bidentados.

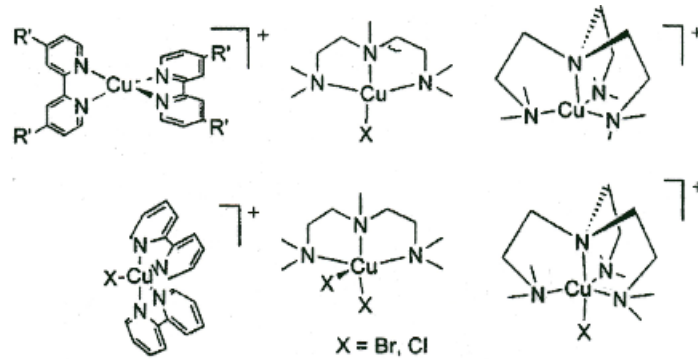


Figura 3. Algunos complejos de cobre utilizados como catalizadores en ATRP.

III.1.2.4. SOLVENTES

La ATRP puede ser llevada a cabo tanto para polimerizaciones en masa o en solución como para un sistema heterogéneo como emulsión o suspensión. Una gran variedad de solventes han sido utilizados para llevar a cabo estos procesos en ATRP, como benceno, tolueno, acetato de etilo, acetona, dimetilformamida (DMF), alcohol, agua, entre otros. El uso de un determinado solvente dependerá del monómero a utilizar, especialmente cuando el polímero obtenido sea insoluble en su monómero. Existen ciertas consideraciones a ser tomadas en cuenta para la elección de un solvente, como lo son:

- La transferencia de cadenas hacia el solvente debe ser mínima.
- Las interacciones entre el solvente y el catalizador deben ser consideradas, especialmente para evitar el envenenamiento de éste último.
- Evaluar la posibilidad de un cambio en la estructura del catalizador.

Se ha encontrado que medios polares ayudan también a la disolución de los catalizadores en el medio de reacción.

CAPÍTULO IV

IV.1. COPOLÍMERO DE ESTIRENO-DIVINILBENCENO (S-DVB)

Un copolímero de gran utilidad es el conformado por estireno-divinilbenceno (S-DVB), el cual tiene amplia aplicación en el desarrollo de resinas de intercambio iónico. La estructura de esta resina puede verse en la figura 4. Las resinas sintéticas de intercambio iónico consisten en una matriz polimérica en forma de pequeñas esferas, reticulada por la acción de un agente entrecruzante y funcionalizadas con grupos inorgánicos y orgánicos.^[24] Son los materiales más habituales en las aplicaciones de intercambio iónico en la industria. La mayoría de las resinas comerciales están basadas en la estructura estireno-divinilbenceno, debido a su buena resistencia química y física y a su estabilidad en todo el rango de pH y temperatura.

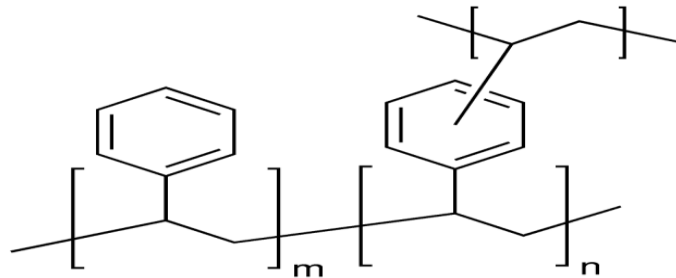
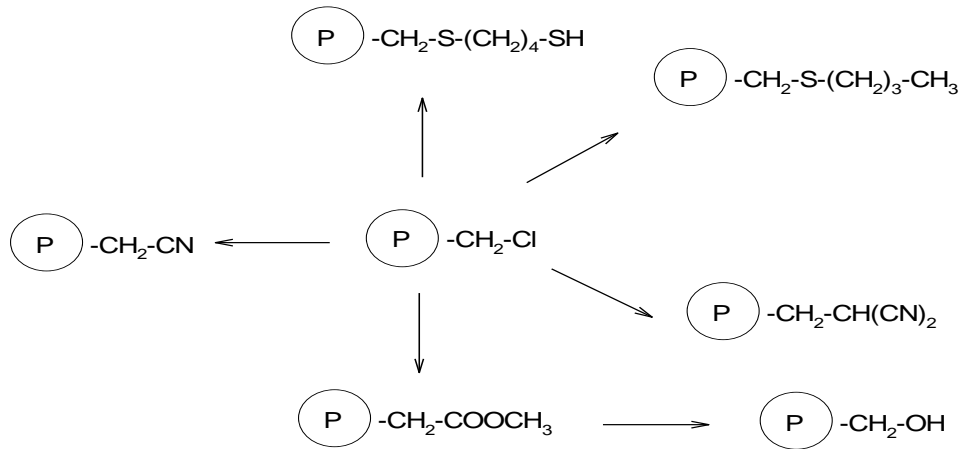


Figura 4. Copolímero de estireno-divinilbenceno.

IV.1.1. FUNCIONALIZACIÓN DEL S-DVB

Por ejemplo, las resinas de intercambio aniónico han sido preparadas a partir de un copolímero de S-DVB a través de una ruta sintética la cual involucra la clorometilación del polímero y el posterior tratamiento con aminas.^{[24]-[27]} Si el S-DVB es pre-hinchado en el clorometil metil éter, la velocidad de reacción es independiente del

tamaño de partícula y el grado de entrecruzamiento del polímero. El S-DVB puede sufrir variedad de reacciones como lo son sulfonación, clorometilación y tratamiento con amoníaco o aminas una vez clorometilado el copolímero, según se observa en el esquema 7.



Esquema 7. Algunas reacciones que puede experimentar el S-DVB.

La capacidad de intercambio del producto final está controlada por el grado de clorometilación del mismo. La reacción de clorometilación está sujeta, sin embargo, a complicaciones que no son encontradas en otras reacciones que involucran la funcionalización de resinas, como por ejemplo la de sulfonación. Está demostrado que una reacción secundaria puede llevarse a cabo (ver esquema 8), entre el grupo clorometil enlazado a un benceno y otro núcleo aromático. En sistemas poliméricos, una reacción intermolecular de este tipo puede dar lugar a entrecruzamiento, lo cual, siendo difícil de controlar y estimar, puede ser una seria desventaja.



Esquema 8. Reacción alternativa que puede ocurrir durante la clorometilación del S-DVB.

La clometilación del S-DVB es una reacción inicialmente rápida, pero a medida que transcurre la misma, ésta tiende a estabilizarse en el tiempo de acuerdo al grado de clorometilación que se va alcanzando. Con reacciones muy prolongadas, el contenido de cloro obtenido es mayor que el correspondiente a la monosustitución. Este hecho, junto con el riesgo de reacciones muy prolongadas, puede dar lugar a entrecruzamiento adicional, lo cual constituye una gran dificultad en la preparación de éste tipo de resinas.^[26]

El grado de clorometilación obtenido en la reacción depende del grado de hinchamiento de la resina. Si la reacción es llevada a cabo una vez obtenida la resina en presencia de un catalizador, ácido de Lewis como cloruro de estaño (SnCl_4), el grado de hinchamiento de la resina resulta ser muy pequeño, y por lo tanto, el grado de clorometilación alcanzado es muy bajo. Para solventar este problema existen dos alternativas que deben ser utilizadas en conjunto, como son el uso de poliestireno durante el proceso de preparación de la resina, con la finalidad de que el mismo quede atrapado dentro del copolímero una vez ocurra el entrecruzamiento, posteriormente el poliestireno es removido lavando el producto con tolueno caliente, con lo cual las esferas presentan poros por los cuales el proceso de difusión del clorometil metil éter se ve facilitado.



Figura 5. Formación de los poros en la resina una vez realizada la extracción con tolueno.

La segunda alternativa a ser utilizada consiste en dejar bajo agitación durante un tiempo estimulado la resina junto con el clorometil metil éter sin el catalizador, ya que a pesar que el éter es un buen agente de hinchamiento, éste procedimiento facilita la difusión del éter a través de la matriz polimérica, y con esto es posible obtener una resina funcionalizada tanto en su superficie como en su interior.^[26]

IV.1.2. APLICACIONES DE LOS SOPORTES POLIMÉRICOS

El uso de soportes poliméricos es de gran interés hoy en día en química orgánica, especialmente en lo relacionado a la síntesis combinatoria y a la síntesis de péptidos.^{[6],[28],[29]} La síntesis en fase sólida es, de hecho, un ejemplo de reacciones utilizando un sustrato soportado. Más específicamente son un ejemplo de reacciones las cuales involucran grupos protectores soportados. En muchas de las síntesis de péptidos en fase sólida es el grupo carboxilo del ácido correspondiente el protegido.

La principal característica en las reacciones que involucran enlaces a esferas de polímero insoluble la heterogeneidad del sistema de reacción. Esto trae consigo varios efectos, siendo uno de ellos que el polímero se comporte como una fase separada. Si se dispone de esferas de polímero uniformemente funcionalizadas y con un tamaño aproximado de 100µm, el cual puede ser fácilmente accesible para los reactivos, se tiene que aproximadamente el 99% de los grupos funcionales se encontrarán dentro de las esferas, en la zona de entrecruzamiento. Por lo tanto, está claro que en cualquier esfera con un grado de funcionalización significativo, las especies reactivas en solución tendrán que entrar o difundir dentro de las mismas (proceso de hinchamiento) para reaccionar, y que es en esa zona de reticulado donde existen, generalmente, una alta concentración de sitios reactivos.

Los soportes que han sido más extensamente utilizados para la síntesis orgánica soportada en polímeros son esferas microporosas de poliestireno entrecruzadas con 1 o 2% de divinilbenceno. Para que las reacciones que involucran especies en solución, las esferas deben ser hinchadas por el solvente de la reacción. En una primera aproximación, los solventes que mejor hincharán las esferas son aquellos que disolverían el polímero lineal correspondiente. De hecho, el hinchamiento representa un intento de las cadenas poliméricas en disolverse. La prolongación en el hinchamiento disminuye a medida que el porcentaje de entrecruzamiento aumenta; un copolímero con 1% de entrecruzamiento tendrá un mejor hinchamiento que uno con 2% de entrecruzamiento. Si el grado de entrecruzamiento es mucho menor a 1%, las esferas tienden a volverse frágiles y pueden desintegrarse. Es importante saber que el grupo funcional enlazado al polímero puede afectar las propiedades de hinchamiento del mismo, especialmente en esferas altamente funcionalizadas. Sin embargo, a pesar de que las reacciones con soportes poliméricos ocurren de manera controlada, si la difusión del sustrato soluble dentro de los sitios activos de las esferas es limitada, y en ocasiones lo es, se genera un grado de selectividad considerable dentro del reactivo soportado.^[28]

CAPÍTULO V

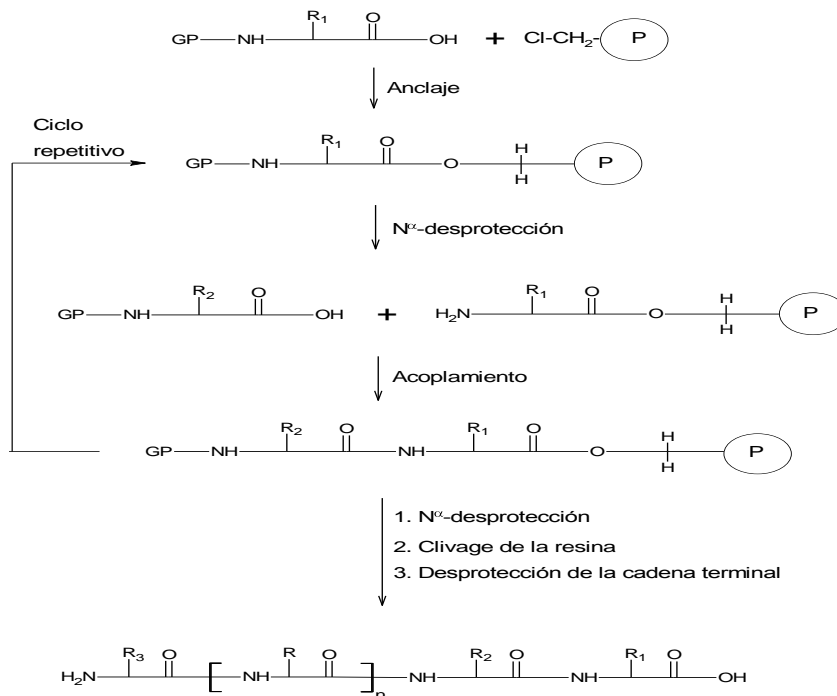
V.1 SÍNTESIS DE PÉPTIDOS Y PROTEÍNAS

V.1.1. MÉTODOS GENERALES PARA LA SÍNTESIS DE PROTEÍNAS^{[29],[30]}

Existen tres tipos de métodos para la síntesis de péptidos, los cuales han sido desarrollados y mejorados con el paso de los años. Tanto como los métodos individuales como combinaciones de los mismos pueden ser utilizados para la construcción y síntesis de proteínas.

V.1.1.1. SÍNTESIS POR PASOS

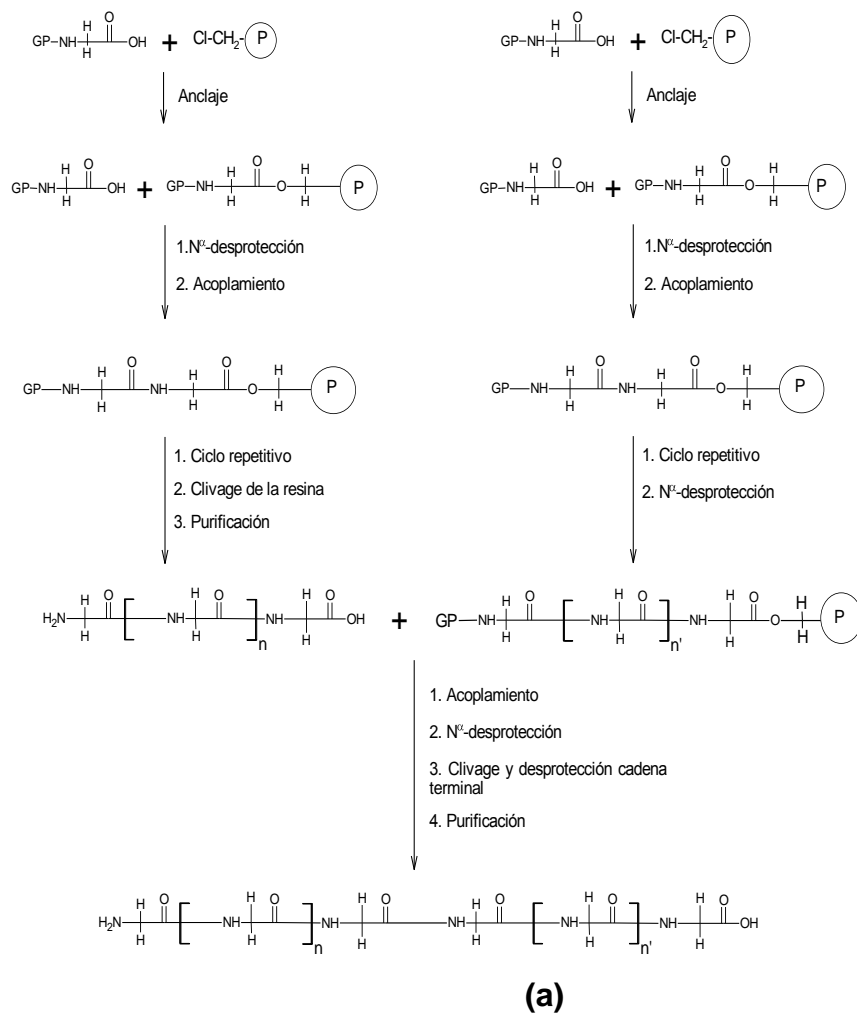
En la cual la proteína o péptido entero son sintetizados a través del enlace de un aminoácido a la vez, según se ilustra en el esquema 9.

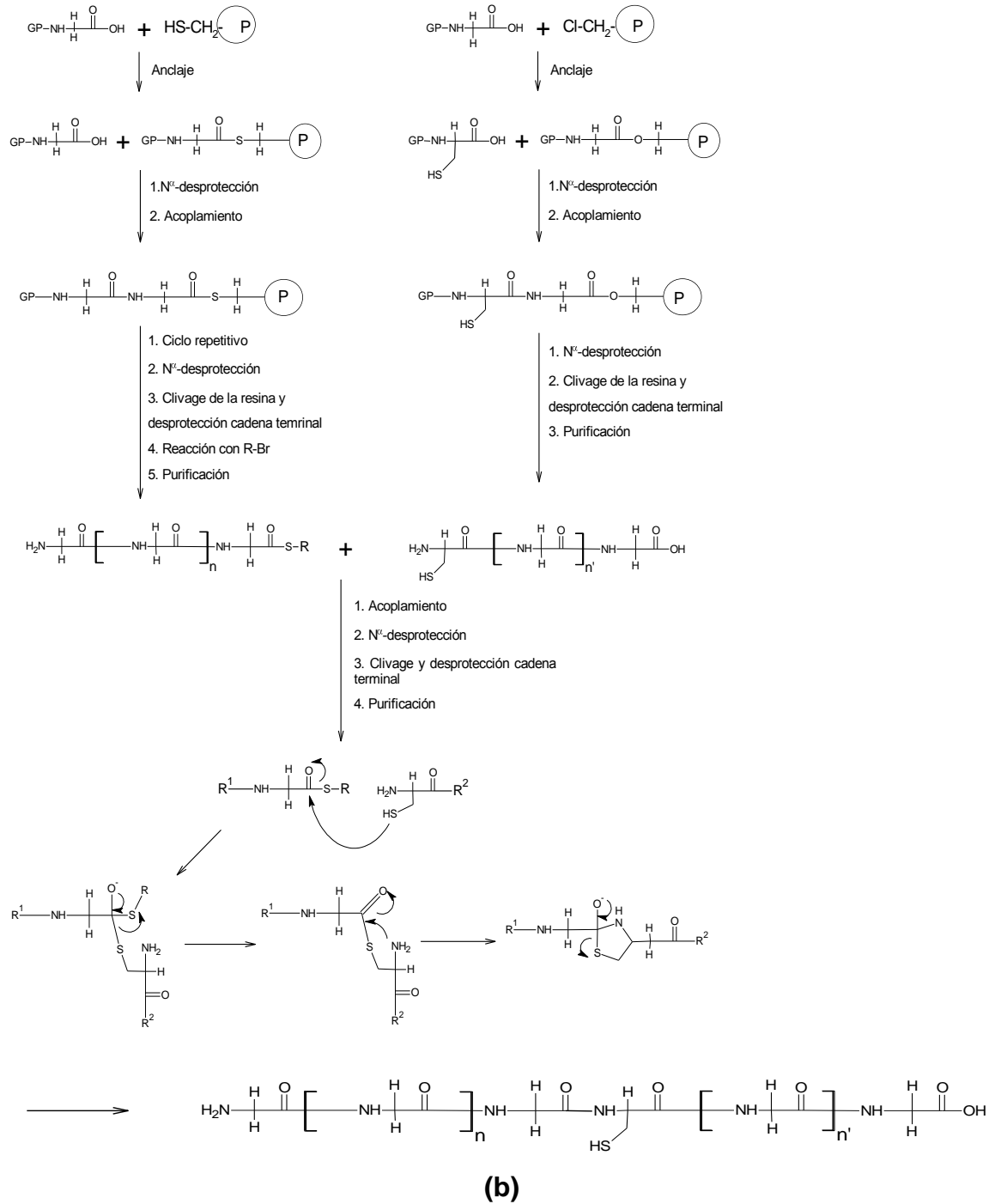


Esquema 9. Síntesis de un péptido por pasos.

V.1.1.2. ENSAMBLAJE FRAGMENTADO

Mediante el cual las pequeñas cadenas de péptidos son inicialmente construidas por pasos y luego purificadas para ser enlazadas covalentemente entre sí, obteniendo de esta forma la proteína deseada. La síntesis por ensamblaje fragmentado puede subdividirse en dos métodos: (1) la síntesis convergente de aminoácidos completamente protegidos (esquema 10 a) ; y (2) ligación quimioselectiva de fragmentos desprotegidos (esquema 10 b)

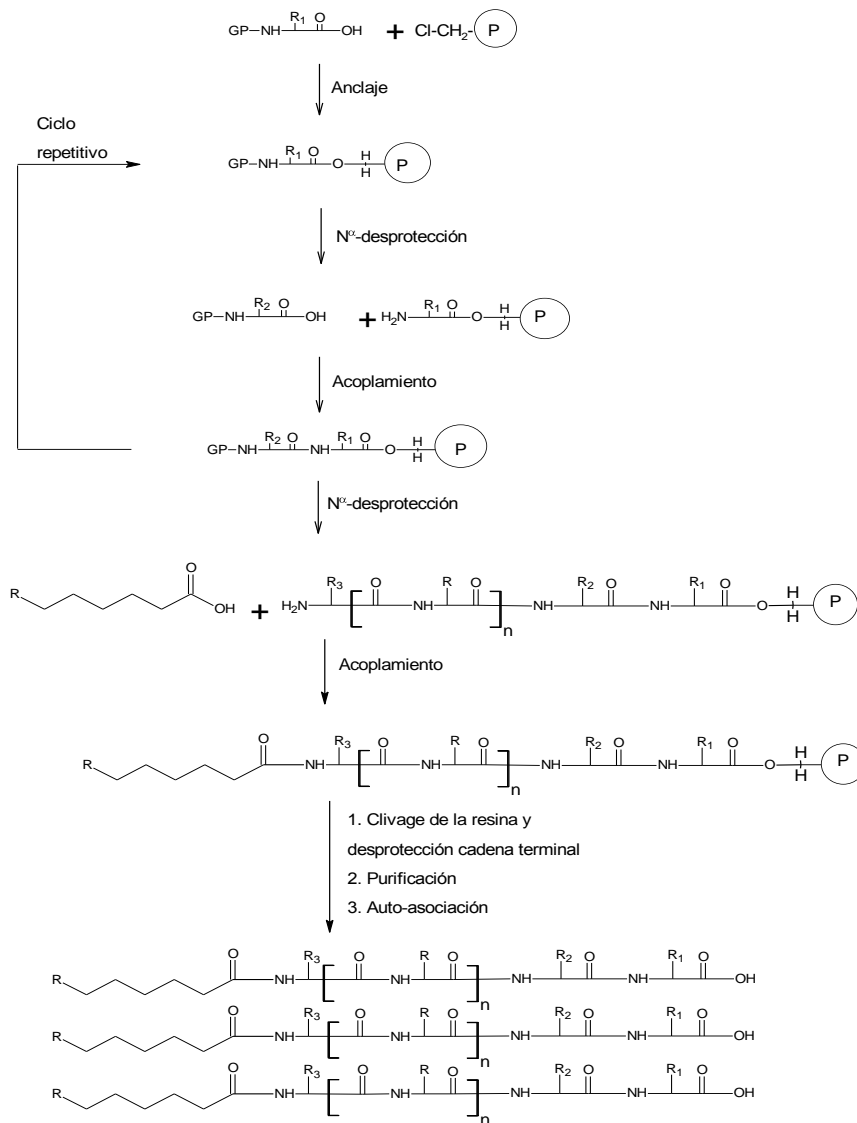




Esquema 10. (a) Síntesis convergente de péptidos protegidos. (b) Ligación quimioselectiva de fragmentos peptídicos desprotegidos.

V.1.1.3. ENSAMBLAJE DIRECTO

A través del mismo, los péptidos individuales son sintetizados por pasos y purificados, y luego se hacen reaccionar de manera no-covalente para que adquieran la forma de la proteína requerida.



Esquema 11. Ensamblaje directo de péptidos.

V.1.2. SÍNTESIS DE PÉPTIDOS SOBRE SOPORTES POLIMÉRICOS^{[6],[28]-[31]}

En este tipo de síntesis se realiza, primeramente, la protección del grupo amino del aminoácido correspondiente para luego proceder al anclaje del mismo en el soporte polimérico funcionalizado, utilizando para ello un agente de acoplamiento estándar. Seguidamente, se remueve el grupo protector y un segundo aminoácido protegido es acoplado al primero. Ésta secuencia se repite tantas veces como el número de aminoácidos requeridos para formar el péptido deseado. El último paso es el clivaje del péptido de la resina. La escogencia tanto de la resina funcionalizada así como del agente acoplante y el grupo protector a emplear son parámetros cruciales que deben ser considerados en las repetidas secuencias de acoplamiento-desprotección, para evitar clivajes prematuros o alteraciones en la resina.

V.1.2.1. GRUPOS N^o PROTECTORES DURANTE LA SÍNTESIS EN FASE SÓLIDA

Entre los grupos protectores más utilizados se encuentran el fluorenmetiloxicarbonilo (FMOC), el tritilo (Trt), el benciloxicarbonilo (Cbz), el *tert*-butoxicarbonilo (Boc), y más recientemente el uso de compuestos de sulfonilo como el benzotiazol-2-sulfonilo (Bts) y el 5-metil-1,3,4-tiadiazol-2-sulfonilo (Ths) (ver figura 7). El principal objetivo en el uso de los grupos protectores es el de impedir o prevenir la racemización del C- α de los aminoácidos durante la síntesis. El empleo del FMOC es el más recomendado, ya que la síntesis del aminoácido resulta muy eficiente y, tanto la inserción del mismo como su clivaje pueden realizarse bajo condiciones moderadas de basicidad, con lo cual se reducen o evitan rearrreglos de los productos obtenidos.^{[31],[32]}

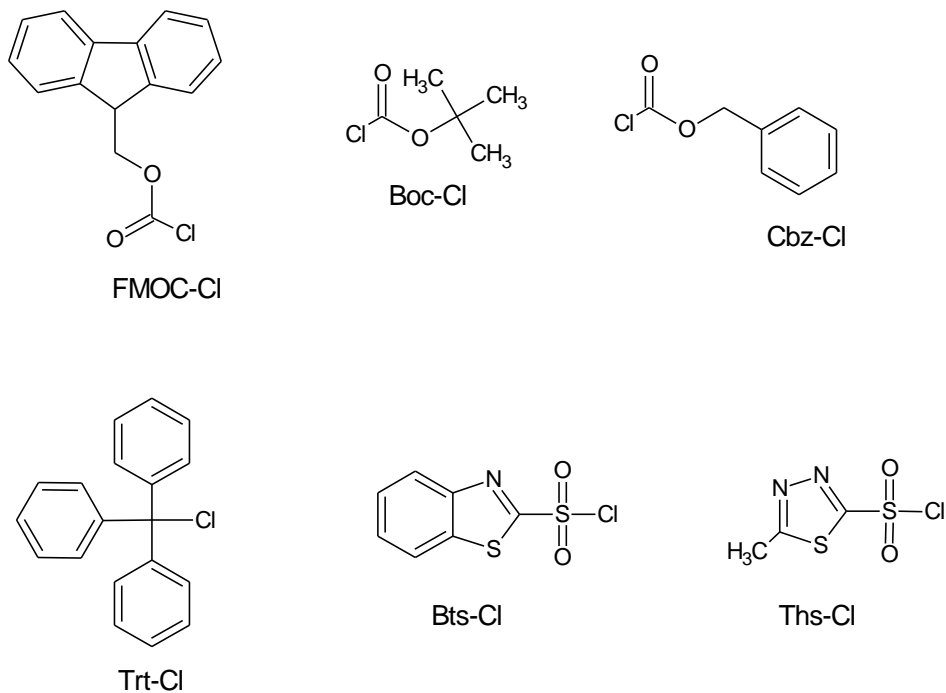


Figura 6. Grupos protectores más comunes.

En la inserción del grupo protector deben emplearse bases voluminosas con poco o ningún carácter nucleofílico, a fin de evitar la formación de la amida respectiva. Es por esto que la escogencia de la base a utilizar resulta ser una elección muy importante. El uso de aminas terciarias como diisopropiletilamina (DIEA), trietilamina (TEA), N-metil-morfolina (NMM), colidina y la 4-dimetilaminopiridina (DMAP) es muy frecuente, debido a las propiedades no nucleofílicas de las mismas, según se muestran sus estructuras en la figura 8.^[32]

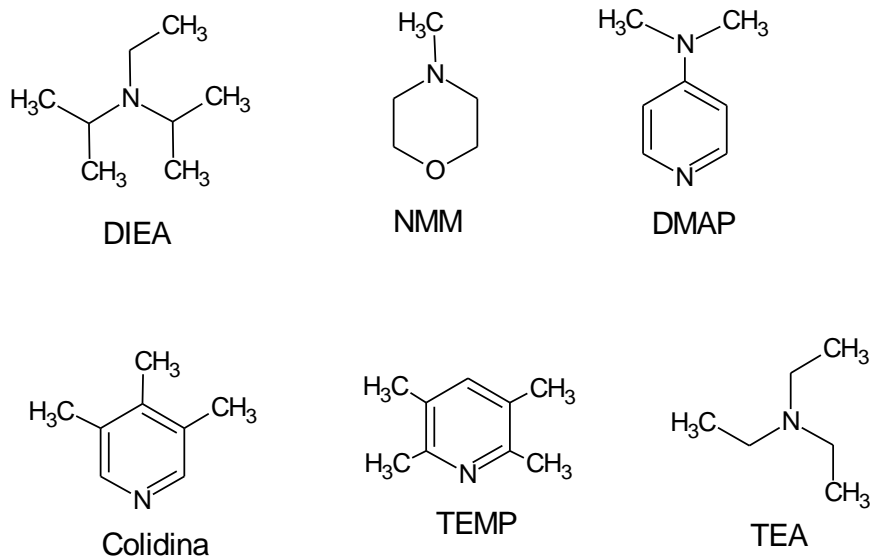
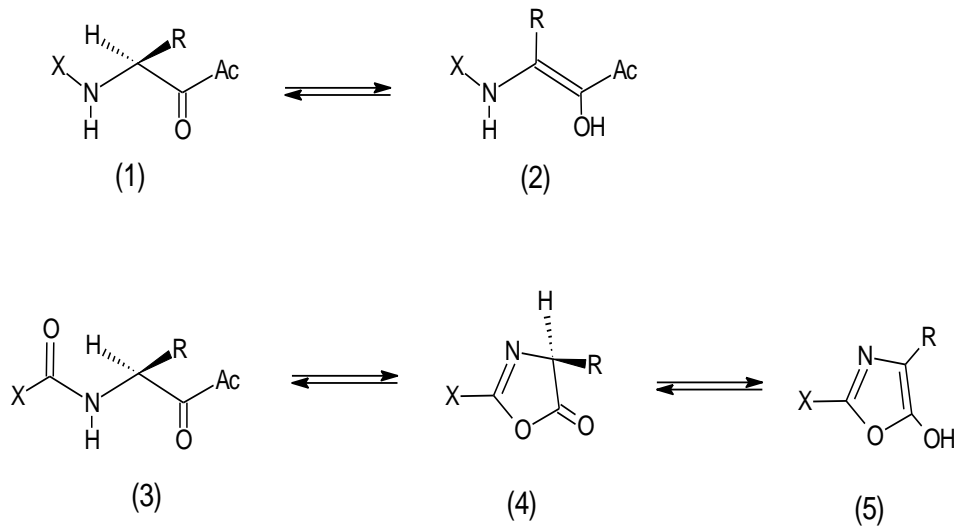


Figura 7. Aminas terciarias utilizadas en la inserción del grupo protector de los aminoácidos.

V.1.2.2. ENLACE PEPTÍDICO Y EL USO DE AGENTES ACOPLANTES

Durante la síntesis de péptidos es necesario el uso de un agente acoplante una vez se requiere la inserción de un nuevo aminoácido a la cadena. La formación controlada de un enlace peptídico (reacción de acoplamiento) entre dos aminoácidos requiere la activación del grupo carboxilo de uno para facilitar la reacción con el grupo amino del otro. Una característica esencial de todos los métodos de acoplamiento es que, además de obtener el enlace peptídico con un buen rendimiento, la integridad configuracional del componente carboxílico debe ser mantenida. Esta dualidad de buen rendimiento y ausencia de racemización es frecuentemente difícil de adquirir, debido a que los métodos más comunes usualmente involucran la conversión del grupo ácido en un derivado que sea un buen grupo saliente.^{[30],[31]} Los grupos salientes tienden a incrementar la acidez del protón- α y favorecer la formación de una oxazolona (**4**), como puede observarse en el esquema 12,^[33] cuando se produce la formación de esta última, la pérdida de configuración es muy notable.

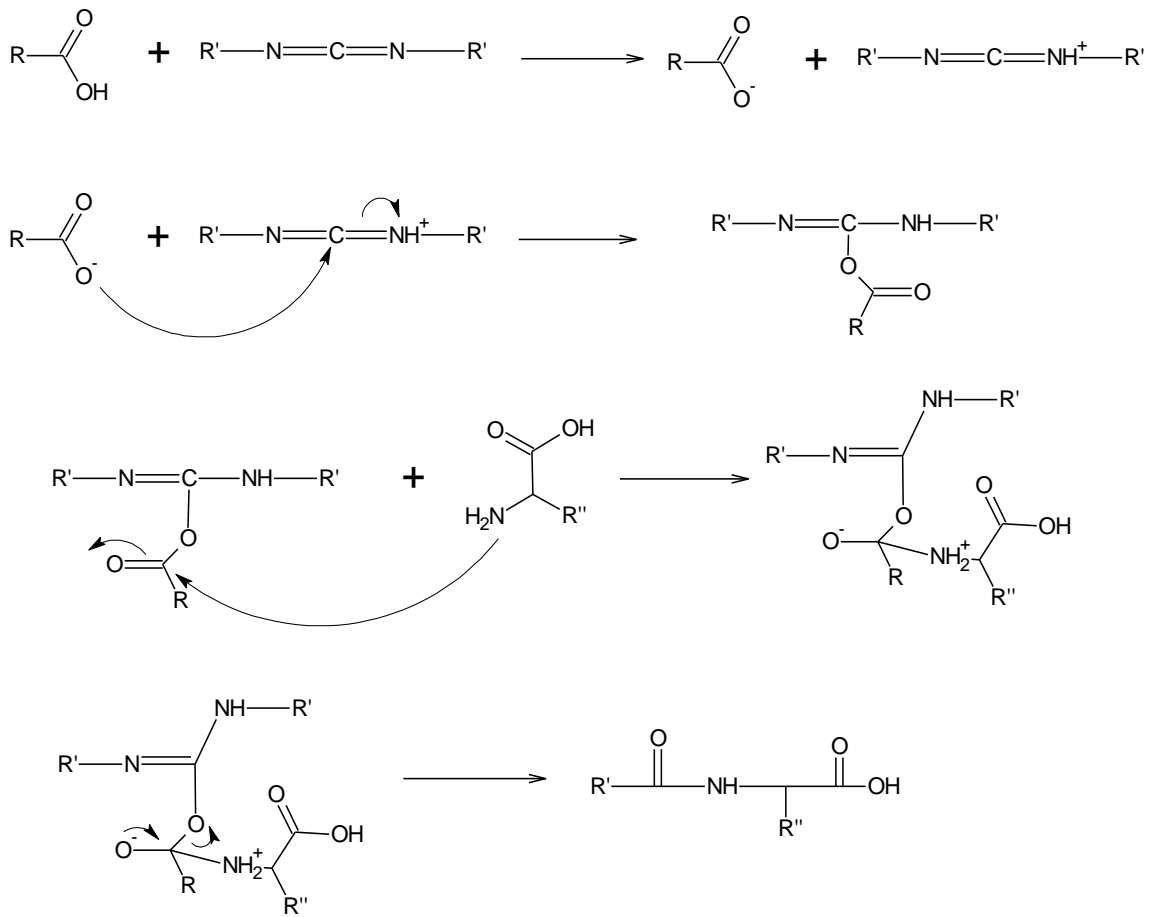


Esquema 12. Mecanismo de formación de la oxazolona.

En la síntesis por pasos de péptidos en fase sólida, el problema de la racemización es menos dramático que en comparación con otras estrategias. El grupo N-protector del aminoácido a ser acoplado (el que posee el grupo carboxílico activado) es normalmente un derivado uretano como el FMOC o el BOC. La presencia de un grupo alcoxi (**1-5**, **X = O-alquil**) en esos carbamatos reduce la tendencia a formar la oxazolona, y de formarse la misma, es poco sensible a la racemización. Además un rasgo característico de la síntesis en fase sólida es que las reacciones de acoplamiento son más rápidas que en solución, minimizando así la pérdida de configuración.^{[33],[34]}

La finalidad de estos agentes acoplantes es la de incrementar tanto la velocidad de la reacción como la reactividad del grupo carboxilo del ácido, a través de su reacción con un electrófilo, con lo cual se produce la formación de un éster más susceptible a ser atacado por un nucleófilo como el grupo amino del ácido anclado previamente al péptido. Un agente acoplante muy utilizado es la diciclohexilcarbodiimida (DCC). La reacción entre el ácido y la DCC, como puede verse en el esquema 13, procede por medio de un ataque nucleofílico del oxígeno cargado negativamente hacia el

carbono central de la DCC, la DCC se enlaza temporalmente al ácido originando un éster, logrando que el ataque nucleofílico del segundo aminoácido sea más eficiente. El principal problema que origina el uso de este agente acoplante viene dado por su alta reactividad, lo cual produce la racemización del aminoácido. De ahí la importancia en la escogencia del grupo protector.^{[33],[34]}



Esquema 13. Mecanismo formación del enlace peptídico a través de la activación del grupo carboxilo con DCC.

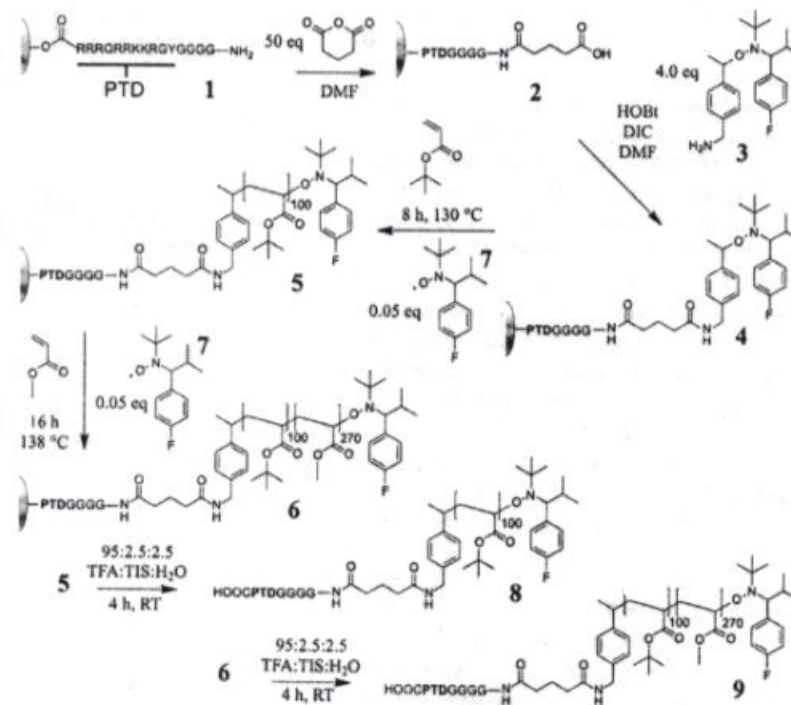
V.1.3. SÍNTESIS DE BIOMATERIALES HÍBRIDOS PÉPTIDO-POLÍMERO SOBRE SOPORTES SÓLIDOS

En los últimos años ha surgido un gran interés por la síntesis de biomateriales híbridos del tipo péptido-polímero, debido a sus aplicaciones dentro de la biomedicina, al proporcionar biocompatibilidad, adhesión y propagación celular.^{[7]-[9]}

La síntesis de estos materiales híbridos se ha lograda a través de la polimerización por radicales vivientes ^{[7],[8]} o por ATRP ^[9] de monómeros que han sido anclados a péptidos o aminoácidos sintetizados en fase sólida y atados a soportes poliméricos.

En el año 2003, Becker et al.^[7], se plantearon la síntesis de un péptido-copolímero en bloque, como agente precursor de ensamblajes macromoleculares más complejos para uso en aplicaciones biológicas.

Partiendo de la resina de Wang, sintetizaron, por el procedimiento del FMOC, la proteína de transducción de dominio (PTD) con una extensión residual de cuatro moléculas de glicina. Luego, mediante una serie de modificaciones sintéticas, obtuvieron un macroiniciador para la polimerización de radicales por medio de nitróxido (NMRP) en el extremo final de la cadena residual de glicina; a través de dicho iniciador realizaron la polimerización de *terc*-butilacrilato y metilacrilato secuencialmente, según se observa en el esquema 14. Durante el clivage del producto desde la resina con TFA/triisopropil silanol(TiS)/H₂O, también ocurrió el clivage de los ésteres *terc*-butílicos, obteniendo de esta forma poli(ácido acrílico) dentro del producto en lugar de poli(*terc*-butil acrilato) solamente.



Esquema 14. Síntesis del PTD-*b*-PAA y PTD-*b*-PAA-*b*-PMA.

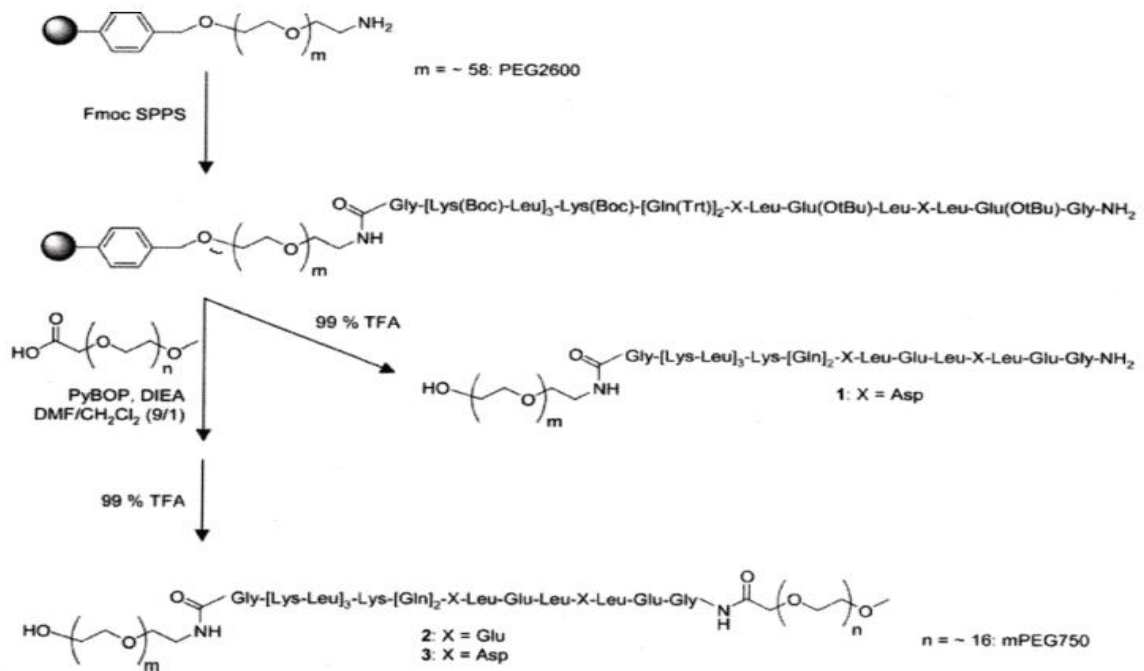
Así, lograron la síntesis de un péptido-copolímero en bloque, construido sobre un soporte sólido. De esta forma, obtuvieron dos productos, un copolímero en bloque hidrofílico de PTD-*b*-poli(ácido acrílico) (PTD-*b*-PAA) y un copolímero en tribloque anfifílico de PTD-*b*-poli(ácido acrílico)-*b*-poli(metil acrilato) (PTD-*b*-PAA-*b*-PMA).

Por caracterización por RMN-¹H y ¹⁹F, determinaron el grado de polimerización del ácido acrílico y el metil acrilato, que resultaron ser 100 y 270 respectivamente.

En el 2003, Rösler et al.^[8], realizaron investigaciones sobre la posibilidad de síntesis de un material híbrido, a escala nanométrica, de polietilenglicol (PEG) con β-extensiones anfifílicas de péptidos. Basaron su trabajo sobre la inquietud de comprobar si, tomando en cuenta la naturaleza amorfa o semicristalina de la mayoría de los polímeros sintéticos, podía observarse la retención de las propiedades de auto

ensamblaje de las secuencias peptídicas sobre la conjugación de una macromolécula sintética en estado sólido/fundido.

El polímero fue preparado a través de la síntesis en fase sólida y el protocolo del Fmoc. Los segmentos de péptidos en el copolímero en bloque estaban compuestos por una secuencia alternante de residuos aminoácidos hidrofílicos e hidrofóbicos. Luego de la inserción y acoplamiento de la cadena peptídica seleccionada, realizaron una acilación, sobre el α -aminoácido N-terminal, con un ácido carboxílico funcionarizado en un extremo con monometoxi-polietilenglicol (mPEG), dando como producto, los copolímeros en tribloques **2** y **3** que se observan en el esquema 15. Los copolímeros **1** y **3** fueron considerados como dos puntos de “mutaciones” de **2**, con un residuo de ácido glutámico en las posiciones 4 y 8 siendo reemplazados por ácido aspártico.



Esquema 15. Síntesis de un copolímero híbrido en bloque de polietilenglicol conteniendo β -extensiones anfífilicas de una secuencia peptídico.

Sus resultados, basados en análisis de FTIR y Rayos-X, muestran la habilidad de las secuencias peptídicas de formar estructuras organizadas sobre la conjugación del PEG. Las secuencias de las β -extensiones investigadas en las contribuciones para mediar el auto ensamblaje del PEG basado copolímeros en di o tribloque, consisten en una capa alternante de PEG y péptido, con una estructura jerárquica interna de β -láminas, como se muestra en la figura 9.

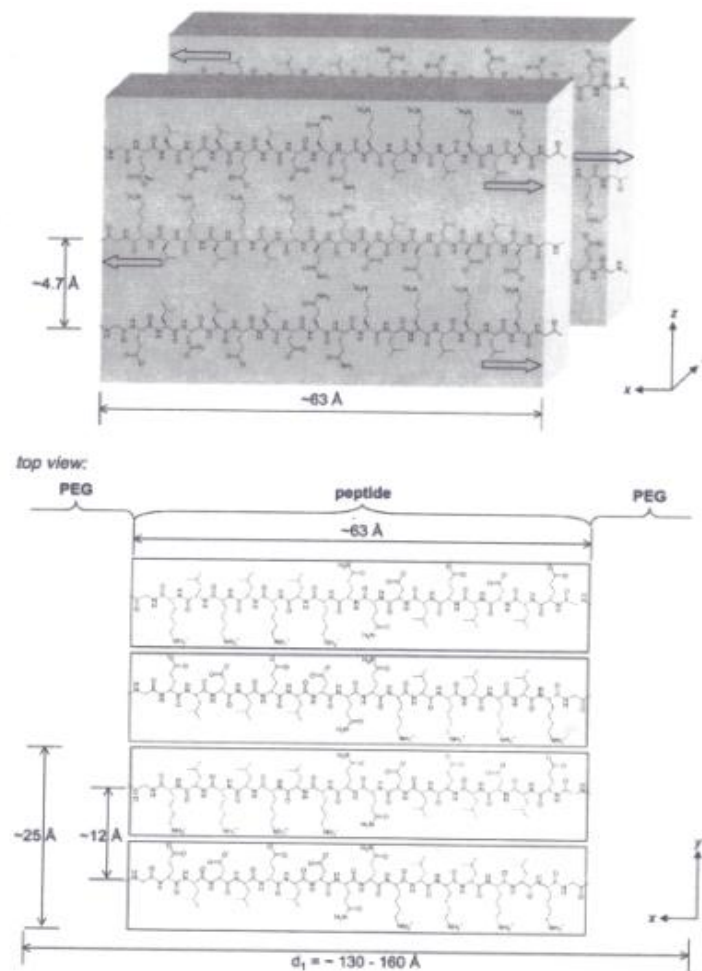
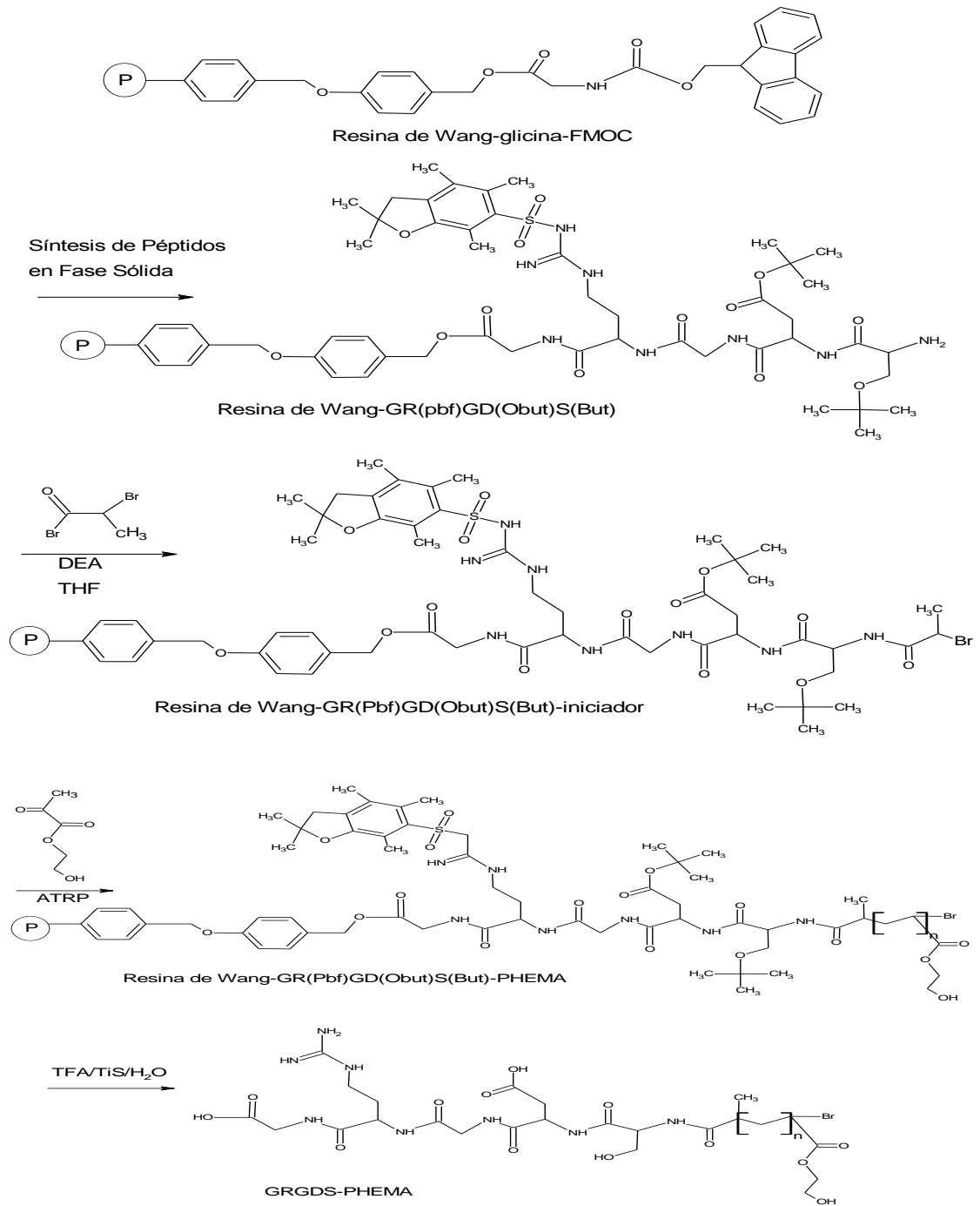


Figura 8. Modelo para la organización a escala nanométrica de los copolímeros en bloque 1 y 3.

Comprobaron que el acoplamiento de secuencias peptídicas bien definidas a macromoléculas sintéticas puede ser una estrategia muy versátil para generar nuevos materiales poliméricos con retención de propiedades de auto ensamblaje, en órdenes nanométricos sin precedentes.

Mei et al.^[9], en el 2004, propusieron una metodología sintética para preparar materiales híbridos por medio de una ATRP desde péptidos soportados sobre resinas. Su objetivo principal fue la síntesis del híbrido glicina-arginina-glicina-ácido aspártico-serina-poli(2-hidroxiethyl metacrilato) (GRGDS-PHEMA) usando ATRP. El PHEMA es un material que ofrece gran biocompatibilidad, además de resistir la adhesión celular y protéica.

Como reactivo de partida, utilizaron glicina, protegida con FMOC, anclada a la resina de Wang. Posteriormente, y mediante el método del FMOC, sintetizaron el fragmento resina-GRGDS. A continuación, utilizando como iniciador el bromuro de 2-bromopropionilo, en presencia de THF y DIEA, anclaron dicho iniciador en el extremo final de la resina-GRGDS. Seguidamente, realizaron la ATRP del HEMA, utilizando como solvente una mezcla de metil etil cetona (MEK) y propanol, obteniendo así el producto deseado. La síntesis del mismo se describe en el esquema 16. El clivaje de la resina fue realizado con TFA/TiS/H₂O, sin embargo, no se ocurrió una hidrólisis significativa de los grupos ésteres del PHEMA presentes bajo estas condiciones.



Esquema 16. Síntesis de un material híbrido GRGDS-PHEMA.

El producto fue caracterizado por RMN- ^{13}C y ^1H . La polidispersidad del GRGDS-PHEMA preparado por ATRP por medio de soporte sólido resultó ser de 1,47, siendo la misma similar a la polidispersidad del PHEMA (1,3-1,5) preparado por ATRP en solución bajo condiciones similares de reacción. Este hecho ayuda a confirmar que la ATRP del PHEMA a partir de soporte sólido fue exitosa, incluso después de ser realizada en una síntesis de péptidos sobre soporte sólido.

Por último, estudiaron las propiedades de adhesión celular del producto, encontrando que el PHEMA no demostró adhesión celular inclusive después de 24 horas de cultivo, debido al carácter hidrofílico del mismo, lo cual resiste la absorción de proteínas de suero necesarias para la adhesión celular. Por el contrario, el GRGDS-PHEMA demostró acoplamiento y extensión celular después de 24 de cultivo.

OBJETIVOS

1. OBJETIVO GENERAL

- Sintetizar en fase sólida de un material híbrido péptido-polímero acrílico.

2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Sintetizar de un copolímero de estireno-divinilbenceno (S-DVB). Caracterización por Microscopía Electrónica de Barrido (SEM) e Infrarrojo con Transformada de Fourier (FTIR).
- Sintetizar del clorometil metil éter. Caracterización por FTIR.
- Funcionalizar el S-DVB con el clorometil metil éter. Formación de la resina de Merrifield. Caracterización por FTIR y potenciometría.
- Sintetizar en fase sólida un péptido constituido por 2 ó 3 aminoácidos. Caracterización por FTIR.
- Sintetizar un material híbrido péptido-polímero acrílico por ATRP. Caracterización por FTIR, RMN-C¹³ y RMN-H.

METODOLOGÍA EXPERIMENTAL

EQUIPOS UTILIZADOS

1. Para la síntesis del copolímero se utilizó un reactor tipo Batch con agitador y baffles.



2. La determinación de la cantidad de cloruro en la resina de Merrifield sintetizada, se utilizó un potenciómetro:

- **Marca:** ORION RESEARCH
- **Modelo:** 701A / digital IONANALYZER



3. Los análisis de FTIR fueron llevados a cabo en un espectrofotómetro de FTIR:

- **Marca:** Thermo Nicolet
- **Modelo:** Nexus 470 FT-IR Esp



El método de preparación de las muestras para los análisis por FTIR se efectuó de las siguientes maneras

- Líquidos: se colocó una gota del compuesto entre dos placas de cloruro de sodio y se procedió a realizar el análisis.
- Sólidos: se colocó una pequeña cantidad de muestra en un mortero, luego se agregó bromuro de potasio (KBr) en una relación muestra:KBr = 1:100. Se mezclaron los sólidos y el polvo resultante se comprimió en una prensa de troquel mecánica para formar una pastilla translúcida a través de la cual pasó el rayo de luz del espectrómetro.

4. Durante la determinación de la cantidad de glicina-FMOC anclada a la resina 2-clorotritilo se empleó un espectrofotómetro de UV-Visible:

- **Marca:** Techcomp
- **Modelo:** 8500 Spectrophotometer UV-Vis.

SOLVENTES

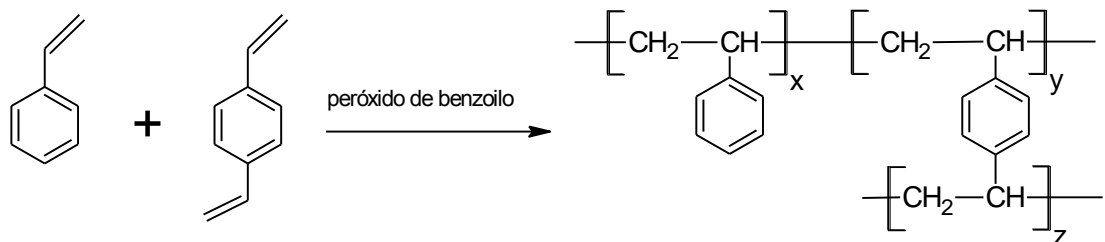
Los solventes, exceptuando el metanol, fueron secados antes de ser usados. A continuación se describe el método de secado empleado para cada uno:

1. **Diclorometano (DCM):** se colocó en reflujo por 3 horas en presencia de hidruro de calcio (CaH_2) y luego fue destilado y guardado bajo atmósfera inerte.
2. **N,N'-dimetilformamida (DMF):** fue destilada a presión reducida y guardada en atmósfera inerte.
3. **Piperidina:** se sometió a reflujo por 3 horas en presencia granallas de hidróxido de sodio (NaOH) y luego fue destilada. El balón de recolección contenía granallas de NaOH y guardado en atmósfera inerte.

1. SÍNTESIS DEL COPOLÍMERO DE ESTIRENO-DIVINILBENCENO (S-DVB)^[35]

La resina fue sintetizada por medio de una polimerización en suspensión. Como medio estabilizante fue empleada una solución de alcohol polivinílico (PVA), la cual fue preparada disolviendo 19,9950 g del mismo en 200,0 mL de agua caliente, toda vez que la adición del PVA fue realizada de manera pausada y constante para evitar la aglomeración del agente tensoactivo. Seguidamente, la solución fue enrasada a 500 mL y cargada en un reactor Batch.

En una fiola, bajo agitación constante, se agregaron 60 mL de estireno (P.M=104,15 g/mol; $\rho=0,909$ g/mL) y 20 mL de divinilbenceno (P.M=130,19 g/mol; $\rho=0,912$ g/mL) en presencia de 2,0190 g de peróxido de benzoilo (P.M=242,23 g/mol) como iniciador y 3,9916 g de poliestireno. Una vez disueltos los componentes y homogeneizada la mezcla, ésta fue agregada al reactor donde se encontraba la solución estabilizante. La temperatura de la reacción fue fijada en 70°C (con la ayuda de un reostato) y la mezcla sometida a una agitación de 500 rpm. La duración total de la reacción fue de 6 horas.



Esquema 17. Síntesis del copolímero estireno-divinilbenceno (S-DVB).

Culminado el tiempo de reacción, la resina producto fue filtrada y lavada con agua caliente y luego se realizaron varios lavados con una mezcla 50:50 etanol-agua. Después de secado el producto al vacío, la resina fue sometida a extracción para retirar el poliestireno agregado, por medio de un montaje tipo soxhlet, como puede observarse en la figura 9.

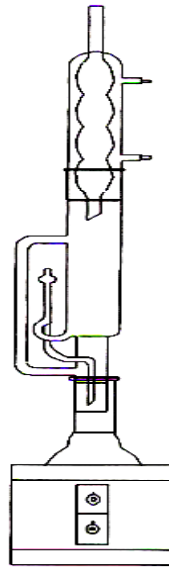


Figura 9. Montaje tipo soxhlet para la extracción del poliestireno contenido en la resina.^[35]

El tolueno fue calentado a ebullición y recirculado sobre la resina en repetidas ocasiones. El balón que contenía el poliestireno disuelto en el tolueno fue sometido a rotavaporación para separar el solvente del polímero.

Concluida la extracción, la resina fue secada al vacío, y caracterizada por Infrarrojo con Transformada de Fourier (FTIR) y por Microscopía Electrónica de Barrido (SEM).

2. SÍNTESIS DEL CLOROMETIL METIL ÉTER (CME)^[26]

En un balón de tres bocas (B) se colocaron 126,8 g de *p*-formaldehído en presencia de 250,0 mL de metanol (P.M=32,04 g/mol; $\rho=0,791$ g/mL); la mezcla fue sometida a reflujo y agitación constante. Una de las bocas fue conectada a un sistema generador de cloruro de hidrógeno (A), el cual se produjo por deshidratación de 100 mL de ácido clorhídrico (P.M=36,46 g/mol; $\rho=1,19$ g/mL) en presencia de 200 mL de ácido sulfúrico. El tiempo de reacción total fue de 6 horas. El montaje respectivo puede observarse en la figura 11.

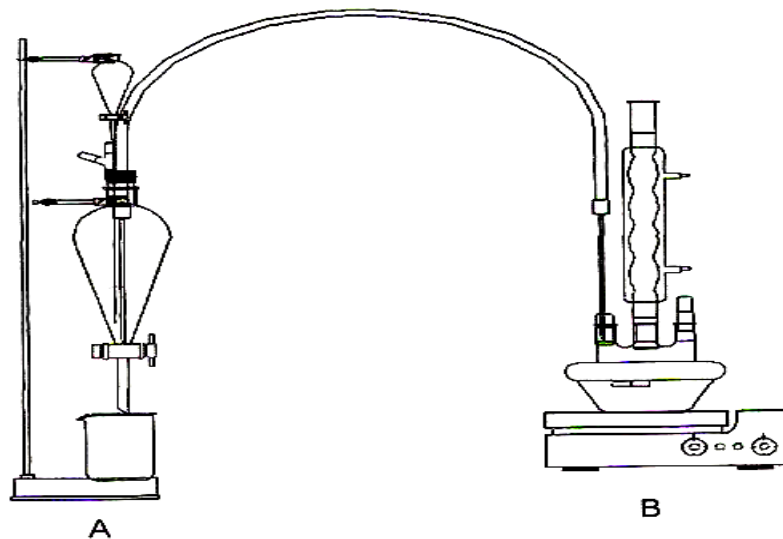
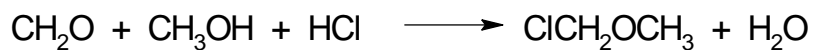


Figura 10. Montaje experimental para la síntesis del CME.^[35]



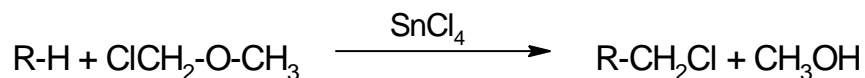
Esquema 18. Síntesis del agente funcionalizante clorometil metil éter (CME).

Concluida la reacción, la solución resultante fue sometida a destilación fraccionada, donde el clorometil metil éter (P.M=80,50 g/mol; $\rho=1,06$ g/mL) fue separado de la mezcla recolectándose en el recipiente de destilado. Por último, el balón de recolección fue sellado y conservado en el congelador para su posterior uso.

La caracterización del CME se llevó a cabo por espectroscopia de FTIR.

3. FUNCIONALIZACIÓN DE LA RESINA CON EL CME

En un balón de una boca fueron colocados 4,9929 g de la resina, luego se agregaron 10,0 mL del CME. Esta mezcla heterogénea fue dejada bajo agitación durante unos minutos y posteriormente se adicionaron 10,0 mL de CME junto con 1,4 mL de tetracloruro de estaño como catalizador, todo esto bajo atmósfera inerte. El tiempo de reacción fue de 6 horas.



Esquema 19. Reacción de funcionalización del S-DVB con el CME

Culminada la reacción, la resina fue filtrada, lavada con diclorometano y metanol, y por último, secada al vacío. Posteriormente, fue caracterizada por espectroscopia de FTIR.

Para la determinación del grado de clorometilación de la resina, se empleó el método potenciométrico, en el cual 0,5084 g de la resina fueron suspendidos en 4,0 mL de piridina y calentados por una hora y media a una temperatura de 100°C. Seguidamente, la mezcla fue enfriada en un baño de hielo mientras se agregaron 6,0 mL de N,N'-dimetilformamida y 6,0 mL de ácido nítrico concentrado. Posteriormente, se permitió que la mezcla alcanzara la temperatura ambiente y fue aforada a un volumen de 100,00 mL. Adicionalmente, se preparó una solución patrón madre de 25000 ppm de cloruro a partir de 2,5168 g de cloruro de sodio aforados a 100,00 mL. Después de elaborada la solución madre, se prepararon patrones de 50, 75, 100, 125 y 300 ppm de cloruro. Luego, el potencial (en mV) de cada patrón fue medido y graficado en función del $-\log[\text{Cl}^-]$ de donde fue obtenida la ecuación de la recta de dicha gráfica. Por último, fue medido el potencial de la solución de la resina, y a partir de la ecuación de la recta obtenida, se determinó el grado de clorometilación de la resina.

4. SÍNTESIS DE UN PÉPTIDO DE CADENA CORTA

4.1. Anclaje del Primer Aminoácido. Síntesis de resina-Gly-FMOC.

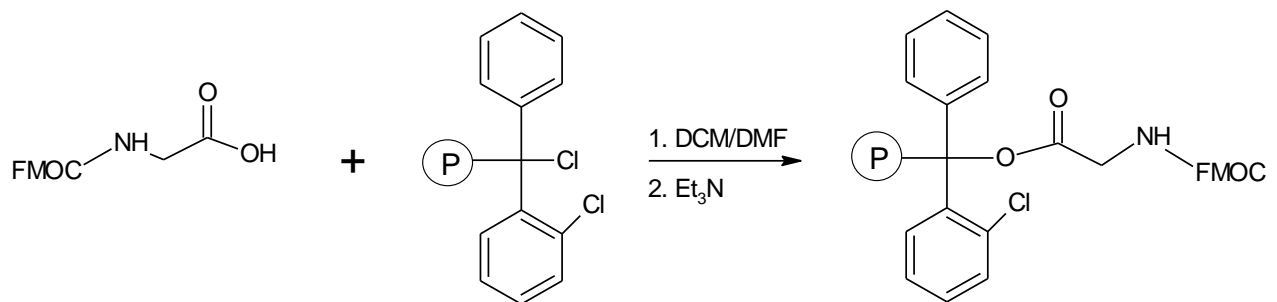
Para el anclaje del primer aminoácido a la resina de Merrifield se colocaron, en un balón de una boca, 0,5286 g de resina, 0,0624 g de glicina-FMOC (Gly-FMOC) disueltos en 6,0 mL de N,N'-dimetilformamida (DMF), tras lo cual se adicionaron 4,0 mL de piperidina y la reacción fue dejada en agitación por 24 horas. Concluido dicho tiempo, la resina fue filtrada y lavada con DMF y diclorometano (DCM) (3x 10,0 mL) y secada al vacío. La caracterización del producto fue realizada por FTIR.

Debido a la dificultad para anclar el primer aminoácido a la resina de Merrifield sintetizada, se decidió probar con la resina comercial de cloruro de 2-clorotritilo, la cual

posee un grado de funcionalización entre 1,0-2,0 mmol Cl/g resina. Además se decidió utilizar un aminoácido protegido como glicina-FMOC en lugar de utilizar el método de protección de aminoácidos a medida que se anclaban en la resina y en el péptido creciente.

En un balón de una boca se colocaron 0,2224 g de resina junto con 0,1857 g de Gly-FMOC (P.M.=297,3 g/mol) disueltos en 5,0 mL de DCM, 1,0 mL de (DMF) y 0,1 mL de trietilamina (P.M.= 101,1 g/mol; $\rho=0,726$ g/mL). El balón fue tapado y dejado en agitación por 5 minutos; una vez transcurrido este tiempo, se agregaron 0,15 mL de trietilamina y la mezcla se dejó bajo agitación por 24 horas.

Después de 24 horas, la resina fue filtrada y lavada con DMF (3 x 3,0 mL), DCM (3 x 3,0 mL) y metanol (MeOH) (3 x 3,0 mL). Posteriormente fue secada al vacío y pesada, para obtener así el producto resina-glicina-FMOC (resina-Gly-FMOC). El producto fue caracterizado por FTIR.



Esquema 20. Anclaje del primer aminoácido. Síntesis de resina-Gly-FMOC.

La cantidad de glicina-FMOC anclada a la resina fue determinada de acuerdo a un método espectrofotométrico de UV, en el cual se utilizó un equipo de doble haz. Una de las cubetas contenía 0,95 mg de resina-Gly-FMOC en piperidina al 20% en DMF, esta suspensión fue agitada por 5 minutos, tras lo cual se dejó asentar el sólido en el fondo de la celda. La otra cubeta contenía piperidina al 20% en DMF. Se realizó un barrido desde 200 hasta 400 nm, observándose un máximo en 290 nm, Con el valor de absorbancia en 290 nm, y mediante una ecuación:

$$\text{Anclaje FMOC} = \text{mmol aminoácido} / \text{g resina} = \text{Abs}_{\text{MUESTRA}} / (1,65 \times \text{mg de resina})$$

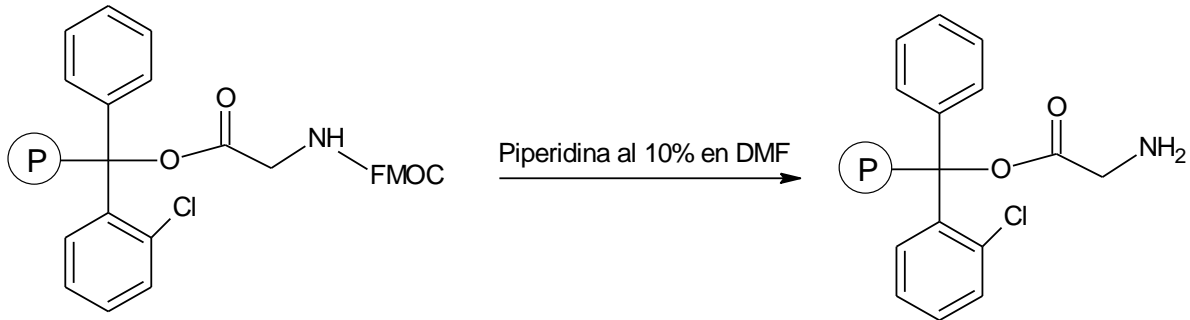
se pudo determinar el contenido del primer aminoácido anclado en la resina.

Para bloquear los sitios activos remanentes en la resina-Gly-FMOC, 0,1778 g de la misma fueron colocados en un balón de una boca, seguidamente se agregaron 5,0 mL de DCM, 0,2 mL de trietilamina y 0,2 mL de MeOH; el balón fue tapado y la mezcla fue agitada por 45 minutos. Una vez terminado el tiempo de reacción, la resina fue filtrada, lavada con DMF (3 x 3,0 mL), DCM (3 x 3,0 mL) y MeOH (3 x 3,0 mL) y finalmente secada al vacío. La caracterización del producto se llevó a cabo por FTIR.

4.2. Desprotección del Primer Aminoácido. Síntesis de resina-Gly.

La desprotección del primer aminoácido anclado se realizó colocando 0,1778 g de resina-Gly-FMOC en un balón de una boca, luego se añadieron 2,0 mL de una solución de piperidina al 20% en DMF y se dejó bajo agitación por 15 minutos. Transcurrido este tiempo, se adicionaron 2,0 mL de piperidina al 20% en DMF ya la mezcla de reacción fue agitada durante 20 minutos. Terminado el tiempo, la resina fue filtrada, lavada con DMF (3 x 3,0 mL), DCM (3 x 3,0 mL) y MeOH (3 x 3,0 mL) y finalmente secada al vacío; obteniéndose el producto resina-glicina (resina-Gly).

El producto fue caracterizado por FTIR.

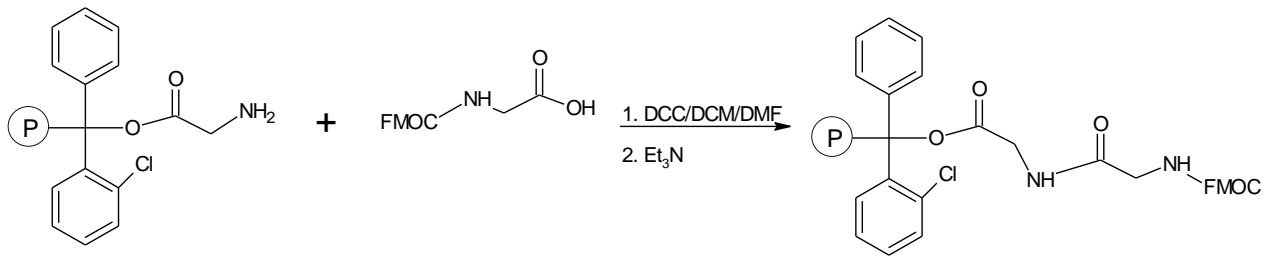


Esquema 21. Desprotección del primer aminoácido. Síntesis de resina-Gly.

4.3. Anclaje del Segundo Aminoácido. Síntesis de resina-Gly-Gly-FMOC.

Para el anclaje del segundo aminoácido (glicina-FMOC), se preparó una solución de 0,0414 g de glicina-FMOC y 0,0552 g de diciclohexilcarbodiimida (P.M.=206,33 g/mol) (DCC) como agente acomplante, disueltos en 4,0 mL de DCM y 2,0 mL de DMF, tras lo cual fueron adicionados 0,01 mL de trietilamina. Esta solución fue colocada en una balón de una boca junto a 0,1476 g de resina-Gly, el balón fue tapado y sometido a agitación durante 24 horas. Concluido el tiempo de reacción la resina fue filtrada, lavada con DMF (3 x 3,0 mL), DCM (3 x 3,0 mL) y MeOH (3 x 3,0 mL) y finalmente secada al vacío; obteniéndose el producto resina-glicina-glicina-FMOC (resina-Gly-Gly-FMOC).

El producto fue caracterizado por FTIR.



Esquema 22. Anclaje del segundo aminoácido. Síntesis de resina-Gly-Gly-FMOC.

4.4. Desprotección del Segundo Aminoácido. Síntesis de resina-Gly-Gly.

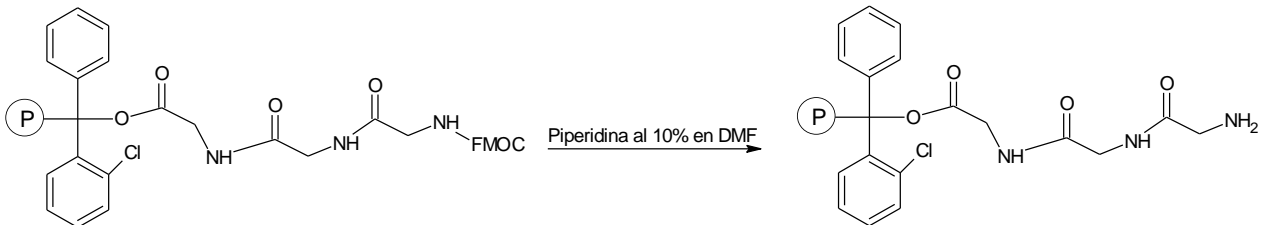
La desprotección del segundo aminoácido anclado se realizó colocando 0,1553 g de resina-Gly-Gly-FMOC en un balón de una boca, luego se añadieron 2,0 mL de una solución de piperidina al 20% en DMF y se dejó bajo agitación por 15 minutos. Transcurrido este tiempo, se adicionaron 2,0mL de piperidina al 20% en DMF ya la mezcla de reacción fue agitada durante 20 minutos. Terminado este tiempo, la resina fue filtrada, lavada con DMF (3 x 3,0 mL), DCM (3 x 3,0 mL) y MeOH (3 x 3,0 mL) y finalmente secada al vacío; obteniéndose el producto resina-glicina-glicina (resina Gly-Gly).

El producto fue caracterizado por FTIR.

4.6. Desprotección del Tercer Aminoácido. Síntesis de resina-Gly-Gly-Gly.

La desprotección del tercer aminoácido anclado se realizó colocando 0,1311 g de resina-Gly-Gly-Gly-FMOC en un balón de una boca, luego se añadieron 2,0 mL de una solución de piperidina al 20% en DMF y se dejó bajo agitación por 15 minutos. Transcurrido este tiempo, se adicionaron 2,0mL de piperidina al 20% en DMF ya la mezcla de reacción fue agitada durante 20 minutos. Terminado este tiempo, la resina fue filtrada, lavada con DMF (3 x 3,0 mL), DCM (3 x 3,0 mL) y MeOH (3 x 3,0 mL) y finalmente secada al vacío; obteniéndose el producto resina-glicina-glicina-glicina (resina-Gly-Gly-Gly).

El producto fue caracterizado por FTIR.



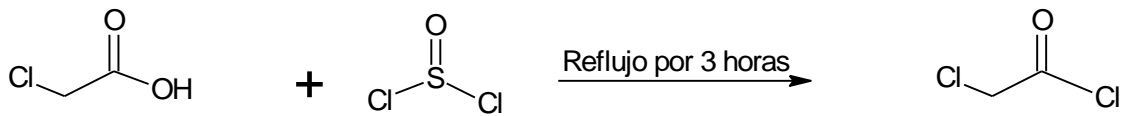
Esquema 25. Desprotección del tercer aminoácido. Síntesis de resina-Gly-Gly-Gly.

4.7. Síntesis del Iniciador Cloruro de Cloroacetilo.

Para la preparación del iniciador, cloruro de cloroacetilo, se destilaron 35,0 mL de cloruro de tionilo (SOCl₂). Posteriormente, 15,0 mL (P.M=118,97 g/mol; ρ=1,638 g/mL) del cloruro de tionilo destilado se hicieron reaccionar con 6,5681 g de ácido cloroacético (P.M=94,50 g/mol) en un balón de una boca tapado a temperatura de reflujo del cloruro

de tionilo (76°C) por un tiempo establecido de 3 horas. Culminado el tiempo de reacción, la mezcla fue destilada para separar el cloruro de tionilo sin reaccionar.

El producto fue caracterizado por FTIR.

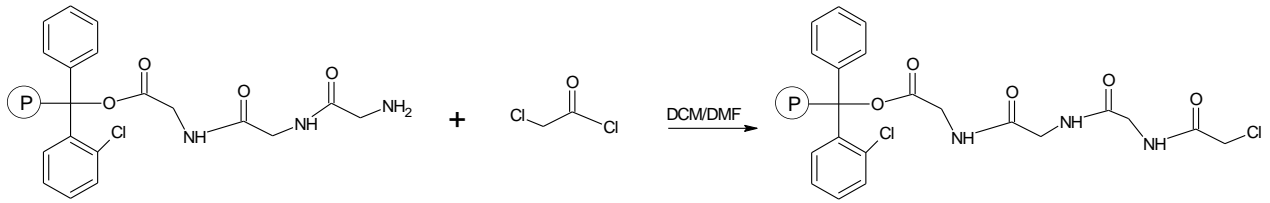


Esquema 26. Síntesis del indicador cloruro de cloroacetilo.

4.8. Anclaje del Iniciador a la Resina. Síntesis de resina-Gly-Gly-Gly-cloroacetilo.

El anclaje del iniciador a la resina-péptido se realizó colocando en un balón de una boca 0,0971 g de la resina-péptido, luego se agregaron 2,0 mL de DCM, 1,0 mL de DMF y por último 1,0 mL del cloruro de cloroacetilo (P.M=112,9 g/mol; ρ=1,4 g/mL). La mezcla de reacción fue dejada bajo agitación por 24 horas. Transcurrido el tiempo de reacción, el producto resina-péptido-iniciador fue filtrado, lavado con DMF (3 x 3,0 mL), DCM (3 x 3,0 mL) y MeOH (3 x 3,0 mL) y finalmente secado al vacío.

La caracterización fue llevada a cabo por FTIR.



Esquema 27. Anclaje del iniciador a la resina. Síntesis de resina-Gly-Gly-Gly-cloroacetilo.

5. SÍNTESIS DE UN MATERIAL HÍBRIDO PÉPTIDO-POLÍMEROS ACRÍLICOS^{[7]-[9]}

5.1. Purificación del Cloruro de Cobre (I).

Para la síntesis del material híbrido, se purificó el cloruro de cobre (I) (CuCl), un sólido compacto de color verde, colocando en un beaker 1,5109 g de la sal y 15,0 mL de ácido acético (AcOH) bajo agitación durante 8 horas. Terminado el tiempo de reacción, el sólido resultante fue filtrado y lavado con etanol (EtOH) (3x 5,0 mL); posteriormente el sólido fue colocado en la estufa a 130°C durante 20 horas. Culminado este lapso de tiempo, el producto fue guardado en un recipiente bajo atmósfera inerte para su uso posterior.

5.2. Purificación del Monómero 2-hidroxietil acrilato.

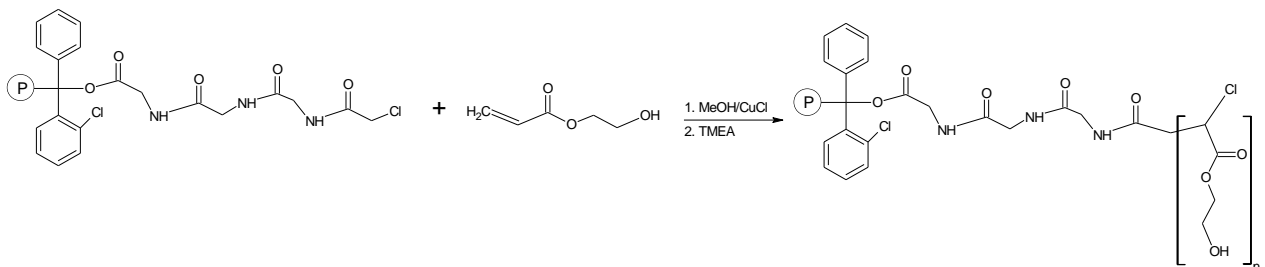
La purificación del monómero escogido, 2-hidroxietil acrilato, se llevó a cabo preparando 40,0 mL de una solución saturada de cloruro de sodio, a esta solución se le agregaron 10,0 mL del monómero y se realizó una extracción utilizando DCM como fase

orgánica (6 x 15,0 mL). Los lavados fueron recolectados y colocados en un balón de una boca, el cual fue sellado y sometido a presión reducida para eliminar el DCM.

El producto fue caracterizado por FTIR.

5.3. Polimerización del 2-hidroxiethyl acrilato. Síntesis de resina-péptido-polímero acrílico.

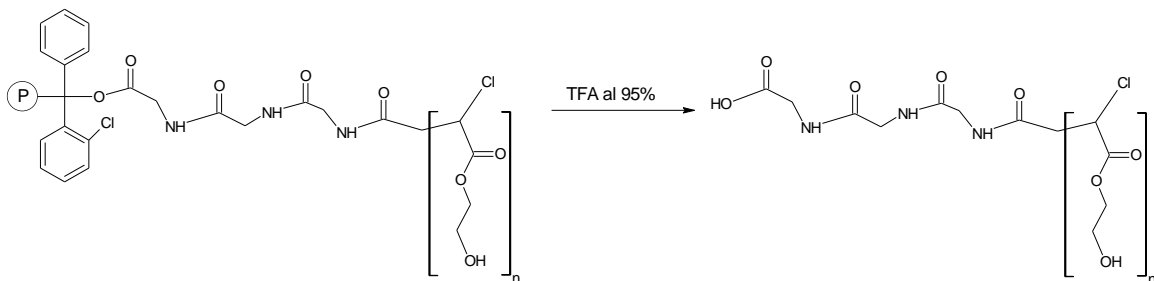
La reacción de polimerización se llevó a cabo en un balón de una boca, al cual se le agregaron 0,0978 g de resina-péptido-iniciador en presencia de 5,0 mL de MeOH, luego se adicionaron 0,0063 g de CuCl (P.M=98,999 g/mol), 0,015 mL del ligando N,N,N',N'-tetrametiletilendiamina (TMEA) (P.M=116,1 g/mol; $\rho=0,78$ g/mL) y por último 4,6 mL del monómero. El balón fue tapado y sometido a agitación durante 24 horas. Transcurrido el tiempo de reacción, el producto resina-péptido-iniciador fue filtrado, lavado con DMF (3 x 3,0 mL), DCM (3 x 3,0 mL) y MeOH (3 x 3,0 mL) y finalmente secado al vacío. El producto fue caracterizado por FTIR.



Esquema 28. Síntesis de resina-Gly-Gly-Gly-poli(2-hidroxiethyl acrilato).

5.4. Clivaje del Material Híbrido Péptido-Polímero de la Resina.

Una vez finalizados los lavados, el péptido-polímero fue clivado de la resina por tratamiento con 5,0 mL de ácido trifluoroacético (TFA) al 95%, por un tiempo de 6 horas. Seguidamente, la resina fue filtrada y lavada con TFA (1x 1,0 mL) y DCM (5 x 5,0 mL); el líquido remanente fue neutralizado con Et₃N y secado al vacío, de donde se obtuvo un aceite. Por razones ajenas a nuestra voluntad sólo pudimos analizar el producto por FTIR.



Esquema 29. Clivaje del material híbrido desde la resina. Síntesis de Gly-Gly-Gly-poli(2-hidroxietil acrilato).

RESULTADOS Y DISCUSIONES

1. SÍNTESIS DEL COPOLÍMERO DE ESTIRENO-DIVINILBENCENO (S-DVB)^[35]

De la reacción de copolimerización se obtuvo un polvo blanco (ver Anexos, figura 15) el cual fue sometido a extracción soxhlet para la recuperación del poliestireno ocluido en la resina. La cantidad de polímero recuperado fue de 3,4941 g, que representa un 88% del polímero agregado inicialmente.

Se obtuvo un peso final de 61,4900 g de producto y un rendimiento de reacción del 85%. La caracterización del copolímero espectroscópica y morfológica por Infrarrojo con Transformada de Fourier (FTIR) y por Microscopía Electrónica de Barrido (SEM). A través del análisis espectroscópico se observaron las siguientes bandas:

Enlace	Descripción^[38]	Señal obtenida (cm⁻¹)	Señal reportada (cm⁻¹)^[38]
arC-H st	Vibración de tensión. Generalmente varias bandas.	3066	3080-3030
arC-H st	Vibración de tensión. Generalmente varias bandas.	3023	3080-3030
C-H st	Vibración de tensión. Intensidad variable. Frecuentemente varias bandas.	2923	3000-2840
C-H st	Vibración de tensión. Intensidad variable. Frecuentemente varias bandas.	2850	3000-2840
arC-C	Intensidad media, a menudo doblete.	1636	1625-1475
CH₂-C=C δ	Vibración de deformación.	1445	1440

Tabla 1. Señales observadas en el espectro de FTIR del copolímero estireno-divinilbenceno (S-DVB).

El espectro del copolímero nos muestra las bandas aromáticas en 3066 y 3023 cm^{-1} característica de las vibraciones de tensión del enlace arC-H. También cerca de esta región de los 3000 cm^{-1} , específicamente en 2923 y 2850 cm^{-1} , encontramos las vibraciones de tensión de los grupos alquílicos C-H en el copolímero. Otras bandas interesantes que pueden observarse en el espectro corresponden al doblete en cm^{-1} , propio en derivados de benceno con centros de simetría en el anillo. La banda ubicada en 1445 cm^{-1} nos indica la presencia de los grupos alquílicos CH y CH₂ que fueron generados a partir del divinilbenceno luego de sufrir el proceso de polimerización. Por último, en la región comprendida entre 2000-1600 cm^{-1} , se observa el patrón de sustitución aromática típica de bencenos mono y disustituidos, como consecuencia del entrecruzamiento entre el estireno y el divinilbenceno.

1.1 Caracterización Morfológica de la Resina

Las resinas, fueron caracterizadas por Microscopía Electrónica de Barrido (MEB), donde se pudo observar que la morfología del copolímero corresponde a esferas regulares y simétricas como se muestra en la figura 11.

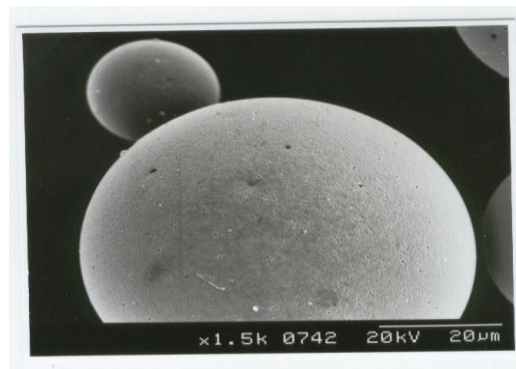


Figura 11. Morfología del copolímero S-DVB sintetizado.

En cuanto al tamaño de la partícula, se aprecia una distribución de tamaño homogénea y estrecha, con un tamaño promedio de 50 μm (figura 12), el cual es un tamaño adecuado para su utilización en la síntesis en fase sólida. En consecuencia, estas características presentes en el soporte polimérico, le permiten ser mecánicamente estable, completamente insoluble en los solventes usados, y fácilmente separado por la filtración.

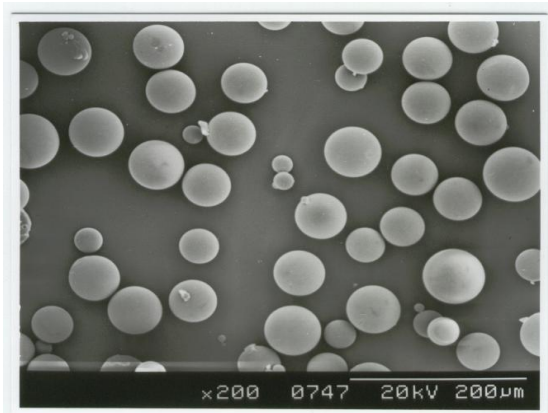


Figura 12: Distribución de tamaño de la resina

Por otro lado, se puede observar al realizar un acercamiento a la superficie de la resina la naturaleza porosa de la misma después de la extracción del poliestireno utilizado para la formación de los poros en comparación con la resina antes de dicha extracción (figura 13).

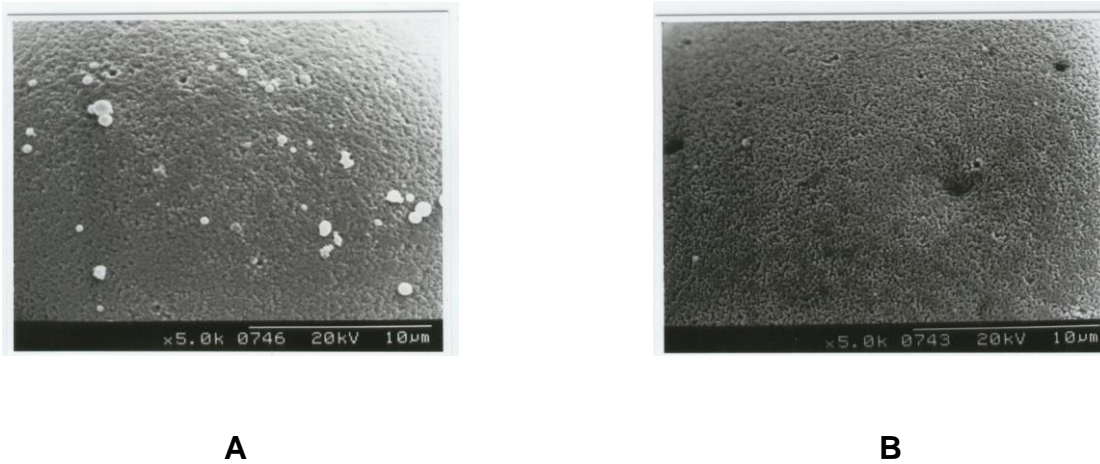


Figura 13: Superficie de la resina: **A)** antes de la extracción con tolueno y **B)** después de la extracción con tolueno.

La formación de poros le permite a la resina seca hincharse con mayor facilidad y que los reactivos difunda a través del copolímero hasta los sitios de reacción. Por otro lado la presencia de poros permite una distribución más uniforme de los grupos funcionales presentes en ella, favoreciendo un mayor grado de funcionalización.

2. SÍNTESIS DEL CLOROMETIL METIL ÉTER (CME)^[26]

El montaje para la síntesis del éter fue diseñado a fin de producir cloruro de hidrógeno por deshidratación de ácido clorhídrico con ácido sulfúrico. La deshidratación se llevó a cabo agregando el ácido clorhídrico al ácido sulfúrico y no a la inversa debido al mayor rendimiento que resulta al realizar la reacción de este modo. Cuando el cloruro de hidrógeno entró en contacto con el metanol y el *p*-formaldehído, la mezcla de reacción se tornó amarillo pálido.

Concluido el tiempo de reacción y sometido el producto a destilación fraccionada, el clorometil metil éter destiló a una temperatura de 58°C y presión de 1 atmósfera, obteniéndose un volumen final de 65,3 mL del éter incoloro y un rendimiento de reacción del 20,4%.

La caracterización del CME se llevó a cabo por espectroscopia de FTIR, obteniéndose las siguientes bandas:

Enlace	Descripción ^[38]	Señal obtenida (cm⁻¹)	Señal reportada (cm⁻¹)^[38]
C-H st	Vibración de tensión. Intensidad variable, frecuentemente varias bandas	2993	3000-2840
C-H st	Vibración de tensión. Intensidad variable, frecuentemente varias bandas	2958	3000-2840
OCH₃ st	Vibración de tensión. Intensidad variable.	2825	2850-2815
CH₂ δ	Vibración de deformación. Intensidad media.	1448	1475-1425
C-O-C st as	Vibración de tensión. Intensa, a veces desdoblada	1139	1310-1000
C-O-C st as	Vibración de tensión. Intensa, a veces desdoblada	1109	1310-1000
C-O-C st sim	Vibración de tensión simétrica. Intensa, a veces varias bandas.	1041	1055-870
C-O-C st sim	Vibración de tensión simétrica. Intensa, a veces varias bandas.	925	1055-870
C-Cl δ	Vibración de deformación. Intensa, en general ancha.	799	830-600

Tabla 2. Señales observadas en el espectro de FTIR para el clorometil metil éter (CME).

Las bandas obtenidas son características para los éteres alifáticos, dentro de las cuales se destacan la banda de vibración de tensión a 2825 cm^{-1} característica de los compuestos con el grupo OCH_3 , la banda de vibración de deformación a 799 cm^{-1} característica del enlace C-Cl, muy intensa y ligeramente ancha, esto a causa de la diferencia en electronegatividad entre el carbono y el cloro, lo cual origina un momento dipolar considerable, y esto a su vez provoca la mayor intensidad de dicha banda. Las bandas intensas ubicadas en el rango $1310\text{-}870\text{ cm}^{-1}$ corresponden a las vibraciones de tensiones tanto simétricas como asimétricas propias del enlace C-O-C,. También deben mencionarse las bandas ubicadas entre $3000\text{-}2840\text{ cm}^{-1}$, características de enlaces C-H del tipo alifático, así como la banda en 1448 cm^{-1} que representa la vibración de deformación del enlace CH_2 . La ausencia de bandas por sobre los 3000 cm^{-1} es un indicativo de la pureza del producto al no presentar rastros de agua o humedad.

3. FUNCIONALIZACIÓN DE LA RESINA CON EL CME

Durante el proceso de funcionalización, al colocar el catalizador de tetracloruro de estaño en el medio de reacción, la resina adquirió un color marrón oscuro (ver Anexos, figura 17). La reacción se llevó a cabo en atmósfera inerte dada la inestabilidad que presentaba el clorometil metil éter en presencia de humedad.

Después de lavada la resina con DCM y MeOH y secada al vacío, se obtuvieron 5,2407 g de la resina de Merrifield, presentando la misma una coloración marrón pálida. La caracterización de la resina funcionalizada fue llevada a cabo por medio de FTIR, dando como resultado las siguientes bandas:

Enlace	Descripción^[38]	Señal obtenida (cm⁻¹)	Señal reportada (cm⁻¹)^[38]
arC-H st	Vibración de tensión. Generalmente varias bandas.	3074	3080-3030
C-H st	Vibración de tensión. Intensidad variable. Frecuentemente varias bandas.	2906	3000-2840
C=C st	Vibración de tensión. Intensidad variable.	1661	1690-1635
arC-C st	Vibración de tensión. Intensidad media.	1597	1625-1575
CH₂-Cl δ	Vibración de deformación. Intensidad media.	1445	1475-1425
C-Cl δ	Vibración de deformación. Intensa, en general ancha.	698	830-600

Tabla 3. Señales observadas para el espectro de FTIR del S-DVB funcionalizado con el CME.

Entre las bandas obtenidas en el espectro destacan las vibraciones de tensión características para compuestos aromáticos en las región sobre los 3000 cm⁻¹ correspondiente al enlace arC-H, la banda en 1597 cm⁻¹ atribuida al enlace arC-C y la banda ubicada en 1661 cm⁻¹ perteneciente a la vibración de tensión del enlace C=C. La funcionalización de la resina puede explicarse al observar la banda de vibración de deformación correspondiente al enlace CH₂-Cl se puede apreciar a una longitud de 1445 cm⁻¹. En esta misma región se encuentra la banda correspondiente a la vibración de tensión de los enlaces C-H de los grupos alquílicos inherentes de la resina. La ausencia tanto de la banda en 2825 cm⁻¹ perteneciente al grupo OCH₃ así como las ubicadas en 1139, 1109, 1041 y 925 cm⁻¹ relativas al enlace C-O-C en sus vibraciones de tensión simétricas y asimétricas propias del clorometil metil éter.

El grado de funcionalización de la resina fue determinado utilizando un método potenciométrico, en el cual se prepararon varios patrones de cloruro de sodio, con un rango de concentraciones desde 50 hasta 2500 ppm de Cl^- , luego fueron medidos los potenciales (en mV) de cada patrón. Una vez medidos los patrones se procedió a graficar el potencial en función del logaritmo de la concentración a fin de obtener una recta. Una vez obtenido el potencial de la suspensión de la resina, por medio del cálculo respectivo se pudo obtener un grado de funcionalización de 0,4 mmoles Cl^-/g de resina ó 1,4% de clorometilación.

4. SÍNTESIS DE UN PÉPTIDO DE CADENA CORTA

4.1. Anclaje del primer aminoácido. Síntesis de resina-Gly-FMOC.

Se realizó el anclaje del primer aminoácido a la resina de Merrifield sintetizada, obteniéndose el siguiente espectro de FTIR:

Enlace	Descripción^[38]	Señal obtenida (cm⁻¹)	Señal reportada (cm⁻¹)^[38]
arC-H st	Vibración de tensión. Generalmente varias bandas.	3062	3080-3030
arC-H st	Vibración de tensión. Generalmente varias bandas.	3023	3080-3030
C-H st	Vibración de tensión. Intensidad variable. Frecuentemente varias bandas.	2923	3000-2840
C-H st	Vibración de tensión. Intensidad variable. Frecuentemente varias bandas.	2846	3000-2840
arC-C	Intensidad media, a menudo doblete.	1597	1625-1475
CH₂-C=C δ	Vibración de deformación.	1450	1440
C-Cl δ	Vibración de deformación. Intensa, en general ancha.	693	830-600

Tabla 4. Señales observadas en el espectro de FTIR para el anclaje del primer aminoácido en la resina de Merrifield sintetizada.

A partir de la tabla se puede observar que el espectro obtenido es muy parecido al espectro del copolímero, además de la falta de bandas características de la molécula glicina-FMOC (Gly-FMOC), como lo son la banda entre 3500 y 3300 cm⁻¹ y las bandas carbonílicas del éster y el carbamato, lo cual nos indica que el anclaje del primer aminoácido no fue efectivo, posiblemente debido a la poca porosidad de la resina, con lo cual los problemas de difusión se acentúan aún más. También se debe tomar en cuenta el grado de funcionalización obtenido, el cual resultó ser muy bajo, ocasionado por la hidrólisis del éter una vez sintetizado. Al tener la resina tan poca funcionalización, puede ser que haya ocurrido el anclaje del primer aminoácido pero a un nivel muy pequeño, tal vez trazas, con lo cual es imposible reconocerlo en el espectro de FTIR.

Además de la resina preparada se decidió utilizar una resina comercial, en este caso cloruro de 2-clorotritilo (sólido de color amarillo pálido), la cual posee un alto grado de funcionalización (1,0-2,0 mmol Cl/g resina), es estable en condiciones de acidez y alcalinidad y en un rango amplio de temperatura ^[36]. El anclaje del primer aminoácido a esta resina resulta ser mucho más fácil y favorecido que el respectivo anclaje en la resina de Merrifield, dada la facilidad con la que puede ser desplazado el cloro en el grupo tritilo. Esto ocasiona que la resina 2-clorotritilo sea mucho más adecuada para la síntesis en fase sólida que la resina de Merrifield.

En el anclaje del primer aminoácido a la resina 2-clorotritilo, se utilizó una mezcla de solventes de DCM y DMF con la finalidad de lograr un grado de hinchamiento óptimo así como una buena solubilidad de los reactivos. Teniendo en cuenta esto, la función del DCM fue hinchar la resina, mientras que la función de la DFM fue solubilizar a los reactivos, dado que la Gly-FMOC resultó ser muy poco soluble en DCM. Después de llevada a cabo la reacción, se obtuvieron 0,2305 g de producto resina-Gly-FMOC, el cual fue caracterizado por FTIR, dando como resultado las siguientes bandas características:

Enlace	Descripción^[38]	Señal obtenida (cm⁻¹)	Señal reportada (cm⁻¹)^[38]
NH st	Vibración de tensión. Intensidad variable.	3555	3500-3100
arC-H st	Vibración de tensión. Generalmente varias bandas.	3090	3080-3030
arC-H st	Vibración de tensión. Generalmente varias bandas.	3017	3080-3030
C-H st	Vibración de tensión. Intensidad variable. Frecuentemente varias bandas.	2917	3000-2840
C-H st	Vibración de tensión. Intensidad variable. Frecuentemente varias bandas.	2848	3000-2840
C=O st (éster)	Vibración de tensión. Intensa.	1706	1790-1650
C=O st (amida)	Vibración de tensión. Intensa.	1646	1740-1630
N-C=O st sim	Vibración de tensión simétrica. Intensa.	1599	1630-1510
N-CO-O st as	Vibración de tensión asimétrica. Intensidad variable.	1258	1270-1210
N-H δ ip	Vibración de deformación en el plano.	1155	1150
C-O st as	Vibración de tensión asimétrica. Intensa, a veces 2 bandas	1086	1330-1050
C-O st as	Vibración de tensión asimétrica. Intensa, a veces 2 bandas	1038	1330-1050

Tabla 5. Señales observadas en el espectro de FTIR para el anclaje del pimer aminoácido en la resina 2-clorotritilo.

La cantidad de glicina-FMOC anclada a la resina fue de 0,45 mmol glicina-FMOC/g resina. El valor obtenido concuerda con el reportado para esta resina, el cual debe encontrarse entre 0,4-0,8 mmol aminoácido / g resina. El nivel de anclaje se encuentra hacia el límite inferior debido al poco tiempo de reacción entre la resina-Gly y la solución de piperidina, con lo cual la desprotección pudo no haber sido cuantitativa.^[37]

Los sitios activos remanentes fueron bloqueados a fin de evitar la formación de mono, di y tripéptidos que interfieran tanto en la síntesis del producto deseado así como en la obtención de los espectros, ya que los mismos darían lugar a bandas no propias que pudieran ser asignadas incorrectamente.

Una vez llevada a cabo la reacción para bloquear los sitios activos remanentes en la resina-Gly-FMOC, en una esterificación con metanol, el producto se caracterizó por FTIR, dando como resultado una notable disminución en la banda correspondiente a 698 cm^{-1} . La disminución más no eliminación de la banda se debe a la imposibilidad que puede presentar el MeOH para acceder a algunos sitios activos, ya sea por el mismo entrecruzamiento de la resina o por la cercanía con los grupos tritilo, los cuales, debido a su gran tamaño, ocasionan impedimentos estéricos dentro de la resina.

4.2. Desprotección del primer aminoácido. Síntesis de resina-Gly.

La desprotección del primer aminoácido ocurre cuando la piperidina extrae el protón ácido del grupo fluorenil, con lo cual, luego del rearrreglo y descarboxilación, se obtienen dibenzofulveno, el aminoácido desprotegido y dióxido de carbono. Las razones para utilizar DMF como solvente fueron principalmente dos, la primera fue la gran capacidad para hinchar la resina, y la segunda, y no menos importante, fue la alta solubilidad que presentó el dibenzofulveno en dicho solvente, con lo cual el único compuesto sólido presente al final de la reacción fue la resina-Gly. Concluido el tiempo

de reacción de 20 minutos, se obtuvieron 0,1558 g de producto resina-Gly. Éste fue caracterizado por FTIR, dando como resultado las siguientes bandas características:

Enlace	Descripción^[38]	Señal obtenida (cm⁻¹)	Señal reportada (cm⁻¹)^[38]
NH₂ st	Vibración de tensión. Intensidad variable, dos bandas.	3573	3600-3300
NH₂ st	Vibración de tensión. Intensidad variable, dos bandas.	3490	3600-3300
arC-H st	Vibración de tensión. Generalmente varias bandas.	3024	3080-3030
C-H st	Vibración de tensión. Intensidad variable. Frecuentemente varias bandas.	2902	3000-2840
C=O st (éster)	Vibración de tensión. Intensa.	1749	1790-1650
C=O st (amida)	Vibración de tensión. Intensa.	1668	1740-1630
N-C=O st sim	Vibración de tensión simétrica. Intensa.	1566	1630-1510
C-O st as	Vibración de tensión asimétrica. Intensa, a veces 2 bandas	1179	1330-1050
C-O st as	Vibración de tensión asimétrica. Intensa, a veces 2 bandas	1151	1330-1050

Tabla 6. Señales observadas en el espectro de FTIR de la desprotección del primer aminoácido anclado.

Al analizar el espectro, se puede apreciar que la desprotección del grupo amino fue llevada a cabo de manera satisfactoria, ya que se observan claramente dos bandas separadas y agudas, características de aminas primarias. Normalmente, las dos bandas que conforman el doblete en los espectros de aminas primarias suelen aparecer muy juntas debido a la interacción entre el grupo amino y los hidrógenos intra e intermoleculares, pero en este espectro puede observarse que las bandas se encuentran ligeramente separadas y bien definidas, esto como consecuencia de la separación que existe entre las moléculas de glicina dentro de la resina, es decir, las moléculas de glicina se encuentran distribuidas uniformemente a lo largo de la resina, con lo cual disminuyen las interacciones tipo puente de hidrógeno intermoleculares entre las moléculas de aminoácido. El tiempo de reacción es muy corto, debido a la buena difusión que presenta la mezcla de solvente y dado que la reacción principal es del tipo ácido-base, la misma ocurre de manera muy rápida. Tomando en cuenta todo esto, se decidió establecer como parámetro para las siguientes reacciones de desprotección un tiempo estimado de 20 minutos.

4.3. Anclaje del segundo aminoácido. Síntesis de resina-Gly-Gly-FMOC.

Para el anclaje del segundo aminoácido se empleó la DCC como agente acoplante, éste, al estar en una proporción 2:1 DCC:Gly-FMOC, forma un anhídrido simétrico, el cual es una especie mucho más reactiva al ataque de un grupo nucleofílico (en este caso el grupo amino de la glicina anclada a la resina), facilitándose de este modo la formación del enlace peptídico. Luego de llevada a cabo la reacción, se obtuvieron 0,1557 g de producto resina-Gly-Gly-FMOC. El mismo fue caracterizado por FTIR, dando como resultado las siguientes bandas características:

Enlace	Descripción^[38]	Señal obtenida (cm⁻¹)	Señal reportada (cm⁻¹)^[38]
NH st	Vibración de tensión. Intensidad variable.	3315	3500-3100
arC-H st	Vibración de tensión. Generalmente varias bandas.	3058	3080-3030
arC-H st	Vibración de tensión. Generalmente varias bandas.	3024	3080-3030
C-H st	Vibración de tensión. Intensidad variable.	2906	3000-2840
C-H st	Vibración de tensión. Intensidad variable.	2852	3000-2840
C=O st (éster)	Vibración de tensión. Intensa.	1744	1790-1650
C=O st (amida)	Vibración de tensión. Intensa.	1713	1740-1630
C=O st (carbamato)	Vibración de tensión. Intensa.	1683	1750-1680
N-C=O st sim	Vibración de tensión simétrica. Intensa.	1599	1630-1510
CH₂ δ	Vibración de deformación. Intensidad media.	1449	1475-1425
N-CO-O st as	Vibración de tensión asimétrica. Intensidad variable.	1262	1270-1210

Tabla 7. Señales observadas en el espectro de FTIR para el anclaje del segundo aminoácido en la resina 2-clorotritilo.

Entre las bandas más destacadas encontramos tres en la región carbonílica, correspondientes a 1744 cm^{-1} para el éster, 1713 cm^{-1} de la amida y 1683 cm^{-1} característica del grupo carbamato del FMOC. La confirmación de la formación del enlace peptídico se puede observar en la banda ubicada en 1599 cm^{-1} típica de la vibración de tensión simétrica del enlace N-C=O. La presencia del grupo carbamato se corroboró con la banda de vibración de tensión asimétrica en 1262 cm^{-1} del enlace N-CO-O. El ensanchamiento de la banda en 3315 cm^{-1} atribuida al enlace N-H se debe a la presencia de dos grupos -NH- en la molécula, como son el -NH- de la amida y el -NH- del carbamato, lo que ocasiona que los ambientes químicos de cada uno sean diferentes y por tanto se produzca un corrimiento en el número de onda distinto en ambos grupos. También observamos las bandas características aromáticas en la región $3100\text{-}3000\text{ cm}^{-1}$, y las bandas alifáticas, tanto de la resina como de los grupos metileno, -CH₂-, de las moléculas de glicina.

4.4. Desprotección del segundo aminoácido. Síntesis de resina-Gly-Gly.

En la desprotección del segundo aminoácido anclado se utilizó el mismo procedimiento empleado para la desprotección del primer grupo Gly-FMOC, obteniéndose así 0,1333 g de producto resina-Gly-Gly. El producto fue caracterizado por FTIR, dando como resultado las siguientes bandas características:

Enlace	Descripción^[38]	Señal obtenida (cm⁻¹)	Señal reportada (cm⁻¹)^[38]
NH₂ st	Vibración de tensión. Intensidad variable, dos bandas.	3658	3600-3300
NH₂ st	Vibración de tensión. Intensidad variable, dos bandas.	3636	3600-3300
NH st	Vibración de tensión. Intensidad variable.	3325	3500-3100
arC-H st	Vibración de tensión. Generalmente varias bandas.	3057	3080-3030
arC-H st	Vibración de tensión. Generalmente varias bandas.	3018	3080-3030
C-H st	Vibración de tensión. Intensidad variable. Frecuentemente varias bandas.	2910	3000-2840
C-H st	Vibración de tensión. Intensidad variable. Frecuentemente varias bandas.	2846	3000-2840
C=O st (éster)	Vibración de tensión. Intensa.	1744	1790-1650
C=O st (amida)	Vibración de tensión. Intensa.	1674	1740-1630
N-C=O st sim	Vibración de tensión simétrica. Intensa.	1597	1630-1510
C-O st as	Vibración de tensión asimétrica. Intensa, a veces 2 bandas.	1190	1330-1050
C-O st as	Vibración de tensión asimétrica. Intensa, a veces 2 bandas.	1156	1330-1050

Tabla 8. Señales observadas en el espectro de FTIR para la desprotección del segundo aminoácido anclado.

Entre las bandas más notables en el espectro encontramos las ubicadas en 3658 y 3636 cm^{-1} correspondientes a las vibraciones de tensión en los enlaces N-H del grupo NH_2 del aminoácido libre. Otra banda significativa se observa en 3325 cm^{-1} , característica del enlace $-\text{NH}-$ del grupo amida; en esta banda también se nota una reducción en la anchura de la misma con respecto al espectro resina-Gly-Gly-FMOC, lo cual indica dos cosas, que la formación del enlace amida fue efectiva, y que la desprotección del segundo grupo glicina fue efectiva. También se pueden apreciar las bandas carbonílicas correspondientes a los grupos éster y amida en 1744 y 1674 cm^{-1} respectivamente. Se mantiene la banda característica del grupo N-C=O en 1597 cm^{-1} . Otras bandas encontradas en el espectro son las representativas de compuestos aromáticos en 3057 y 3018 cm^{-1} y grupos metilenos en 2910 y 2846 cm^{-1} . Las bandas en 1190 y 1156 cm^{-1} son propias de las vibración de tensión asimétrica de enlace C-O.

4.5. Anclaje del tercer aminoácido. Síntesis de resina-Gly-Gly-Gly-FMOC.

La reacción de anclaje del tercer aminoácido llevó a cabo bajo las mismas condiciones empleadas anteriormente. Se obtuvieron 0,1362 g de producto resina-Gly-Gly-Gly-FMOC. El mismo fue caracterizado por FTIR, dando como resultado las siguientes bandas características:

Enlace	Descripción^[38]	Señal obtenida (cm⁻¹)	Señal reportada (cm⁻¹)^[38]
NH st	Vibración de tensión. Intensidad variable.	3649	3500-3300
NH st	Vibración de tensión. Intensidad variable.	3629	3500-3300
NH st	Vibración de tensión. Intensidad variable.	3569	3500-3100
arC-H st	Vibración de tensión. Generalmente varias bandas.	3057	3080-3030
arC-H st	Vibración de tensión. Generalmente varias bandas.	3024	3080-3030
C-H st	Vibración de tensión. Intensidad variable. Frecuentemente varias bandas.	2958	3000-2840
C-H st	Vibración de tensión. Intensidad variable. Frecuentemente varias bandas.	2911	3000-2840
C=O st (éster)	Vibración de tensión. Intensa.	1748	1790-1650
C=O st (amida)	Vibración de tensión. Intensa.	1701	1740-1630
C=O st (carbamato)	Vibración de tensión. Intensa.	1675	1750-1680
N-C=O st sim	Vibración de tensión simétrica. Intensa.	1599	1630-1510
N-CO-O st as	Vibración de tensión asimétrica. Intensidad variable.	1258	1270-1210

Tabla 9. Señales observadas en el espectro de FTIR para el anclaje del tercer aminoácido en la resina 2-clorotritilo.

El espectro nos muestra tres bandas sobre 3500 cm^{-1} , correspondientes a los tres grupos -NH- que conforman los enlaces peptídicos. Este tipo de desplazamientos es típico para péptidos debido a las diferencia en el entorno químico de cada grupo amino, lo cual ocasiona que cada uno se observe a un número de onda diferente y no haya solapamiento entre los mismos. Se observa la presencia del grupo protector a través de la banda en 1675 cm^{-1} perteneciente al grupo carbonilo del carbamato, así como la banda en 1258 cm^{-1} representativa de la vibración de tensión asimétrica del grupo carbamato. Se siguen contemplando las bandas propias de los carbonilos de éster y las amidas formadas en 1748 y 1701 cm^{-1} respectivamente. También pueden notarse las bandas de los grupos aromáticos y alifáticos alrededor de los 3000 cm^{-1} .

4.6. Desprotección del tercer aminoácido. Síntesis de resina-Gly-Gly-Gly.

Para la desprotección del tercer aminoácido anclado obtuvieron $0,1091\text{ g}$ de producto resina-Gly-Gly-Gly, el cual fue caracterizado por FTIR, dando como resultado las siguientes bandas características:

Enlace	Descripción^[38]	Señal obtenida (cm⁻¹)	Señal reportada (cm⁻¹)^[38]
NH st	Vibración de tensión. Intensidad variable.	3636	3500-3100
NH₂ st	Vibración de tensión. Intensidad variable.	3573	3600-3300
NH₂ st	Vibración de tensión. Intensidad variable.	3556	3600-3300
NH st	Vibración de tensión. Intensidad variable.	3493	3500-3100
arC-H st	Vibración de tensión. Generalmente varias bandas.	3057	3080-3030
arC-H st	Vibración de tensión. Generalmente varias bandas.	3024	3080-3030
C-H st	Vibración de tensión. Intensidad variable. Frecuentemente varias bandas.	2905	3000-2840
C-H st	Vibración de tensión. Intensidad variable. Frecuentemente varias bandas.	2845	3000-2840
C=O st (éster)	Vibración de tensión. Intensa.	1741	1790-1650
C=O st (amida)	Vibración de tensión. Intensa.	1668	1740-1630
N-C=O st sim	Vibración de tensión simétrica. Intensa.	1599	1630-1510
CH₂ δ	Vibración de deformación. Intensidad media.	1440	1475-1425
C-O st as	Vibración de tensión asimétrica. Intensa, a veces 2 bandas	1189	1330-1050
C-O st as	Vibración de tensión asimétrica. Intensa, a veces 2 bandas	1153	1330-1050

Tabla 10. Señales observadas en el espectro de FTIR para la desprotección del tercer aminoácido anclado.

Las bandas más importantes en este espectro son las ubicadas en la región sobre 3300 cm^{-1} , las cuales son 3573 y 3556 cm^{-1} para las vibraciones de tensión del enlace NH_2 del tercer aminoácido anclado a la resina. Las bandas encontradas en 3636 y 3493 cm^{-1} son típicas del enlace NH de los dos grupos amida que posee el producto. La intensidad de todas estas bandas se debe a la gran cantidad de enlaces $-\text{NH}-$ que presenta el producto, de ahí que al encontrarse varios grupos análogos en la misma región, éstos tienden a superponerse y aumentar la intensidad de las señales observadas. Además, se sigue observando la banda del enlace N-C=O en 1599 cm^{-1} , la cual fue aumentando de intensidad progresivamente a través de los diferentes espectros a medida que se fueron formando los enlaces peptídicos. Se siguen obteniendo las bandas en 1189 y 1153 cm^{-1} del enlace C-O , las bandas en 2905 , 2845 y 1440 cm^{-1} de los grupos metilenos así como las propias de grupos aromáticos encontradas en la región $3100\text{-}3000\text{ cm}^{-1}$.

4.7. Síntesis del iniciador cloruro de cloroacetilo.

Como iniciador se escogió un análogo de los α -haloésteres, una α -haloamida, formada a partir de la reacción entre el grupo amino de una molécula de glicina y un haluro de acilo como el cloruro de cloroacetilo. La ubicación del halógeno dentro de la molécula es fundamental, y se ha encontrado que la ATRP es favorecida cuando los halógenos se encuentran en posición alfa a grupos carbonilos.

Para la síntesis del iniciador, primero fue necesario destilar el cloruro de tionilo que se iba a utilizar, a fin de aumentar la pureza del mismo y obtener un mejor rendimiento de reacción. Al destilarse el cloruro de tionilo, se obtuvo un volumen total de $22,3\text{ mL}$ y un rendimiento de 64% .

. Una vez llevada a cabo la destilación para recuperar el cloruro de cloroacetilo, se obtuvo un volumen total de 5,1 mL, correspondientes a un 91% de rendimiento. El iniciador fue caracterizado por FTIR, dando como resultado las siguientes bandas características:

Enlace	Descripción^[38]	Señal obtenida (cm⁻¹)	Señal reportada (cm⁻¹)^[38]
C-H st	Vibración de tensión. Intensidad variable, frecuentemente varias bandas	3001	3000-2840
C-H st	Vibración de tensión. Intensidad variable, frecuentemente varias bandas	2950	3000-2840
C=O st	Vibración de tensión. Intensa, estrecha o de anchura variable.	1809	1820-1750
CH₂-C=O δ	Vibración de deformación. Intensidad media	1399	1425-1400
CO-Cl st	Vibración de tensión. Intensa o de anchura variable.	1037	1100-1020
C-CO st	Vibración de tensión.	978	1000-900
CH₂ γ	Vibración de esqueleto. Intensidad media.	780	780-720
C-Cl st	Vibración de tensión	715	750-550

Tabla 11. Señales observadas en el espectro de FTIR para la síntesis del iniciador cloruro de cloroacetilo.

En el espectro encontramos una banda muy intensa en 1809 cm^{-1} característica del grupo carbonilo en haluros de acilo. También puede observarse la banda en 1399 cm^{-1} atribuida a la vibración de deformación del grupo metileno-carbonilo. Otras bandas propias de cloruros de acilo se pueden ver en 1037 y 978 cm^{-1} correspondientes a las vibraciones de tensión del grupo carbonilo con los grupos cloruro y metileno respectivamente. También pueden verse las bandas características de grupos alquílicos en 3001 , 2950 y 780 cm^{-1} , así como una banda muy importante y de gran intensidad ubicada en 715 cm^{-1} propia de la vibración de tensión del enlace C-Cl.

4.8. Anclaje del iniciador a la resina. Síntesis de resina-Gly-Gly-Gly-cloroacetilo.

Durante el anclaje del iniciador a la resina se pudo observar un cambio de coloración en la misma (amarillo pálido a amarillo oscuro) una vez agregado el catalizador. Después de terminada la reacción y tratado el producto, se obtuvieron $0,1002\text{ g}$ de resina-péptido-iniciador de color amarillo pálido. La caracterización fue llevada a cabo por FTIR, dando como resultado las siguientes bandas características:

Enlace	Descripción^[38]	Señal obtenida (cm⁻¹)	Señal reportada (cm⁻¹)^[38]
NH st	Vibración de tensión. Intensidad variable.	3636	3500-3100
NH st	Vibración de tensión. Intensidad variable.	3580	3500-3100
NH st	Vibración de tensión. Intensidad variable.	3468	3500-3100
arC-H st	Vibración de tensión. Generalmente varias bandas.	3057	3080-3030
arC-H st	Vibración de tensión. Generalmente varias bandas.	3022	3080-3030
C-H st	Vibración de tensión. Intensidad variable. Frecuentemente varias bandas.	2901	3000-2840
C-H st	Vibración de tensión. Intensidad variable. Frecuentemente varias bandas.	2845	3000-2840
C=O st (éster)	Vibración de tensión. Intensa.	1752	1790-1650
C=O st (amida)	Vibración de tensión. Intensa.	1704	1740-1630
C=O st (amida)	Vibración de tensión. Intensa.	1674	1740-1630
N-C=O st sim	Vibración de tensión simétrica. Intensa.	1596	1630-1510
CH₂-Cl δ	Vibración de deformación. Intensidad media.	1462	1475-1425
C-O st as	Vibración de tensión asimétrica. Intensa, a veces 2 bandas	1082	1330-1050
C-O st as	Vibración de tensión asimétrica. Intensa, a veces 2 bandas	1051	1330-1050
C-Cl st	Vibración de tensión	697	750-550

Tabla 12. Señales observadas en el espectro de FTIR para el anclaje del iniciador a la resina-péptido.

Las bandas que nos indican el anclaje correcto del iniciador son, principalmente, la ubicada en 1462 cm^{-1} , correspondiente a la vibración de deformación del enlace alquilo-cloruro, propia del grupo $\text{CH}_2\text{-Cl}$ del iniciador, y la banda en 697 cm^{-1} atribuida a la vibración de tensión del enlace C-Cl, la cual aparecía inicialmente, en el espectro del iniciador, en 715 cm^{-1} , lo cual evidencia el corrimiento de la misma debido a la formación del enlace peptídico. Esta banda en 697 cm^{-1} , puede estar solapándose con la banda presente en todos los demás espectros como consecuencia de la presencia del enlace C-Cl que se deriva del grupo clorotritilo de la resina.

5. SÍNTESIS DE UN MATERIAL HÍBRIDO PÉPTIDO-POLÍMEROS ACRÍLICOS^{[7]-[9]}

5.1. Purificación del Cloruro de Cobre (I)

Para llevar a cabo la ATRP, es necesario purificar tanto la sal de cobre a utilizar así como el monómero a polimerizar. El cloruro de cobre antes de la purificación era un sólido aglomerado de color verde.

El cloruro de cobre (I), fue purificado con ácido acético en agitación debido al carácter insoluble de la sal en el reactivo orgánico, el cual fue capaz de disolver las demás impurezas. Luego de realizar el lavado del CuCl con el AcOH , el sólido fue dejado en la estufa por un período de 24 horas a 130°C para asegurar la deshidratación completa de la sal. Culminado este lapso de tiempo, el sólido resultante fue un polvo fino de color blanco (ver Anexos, figura 30) con un peso final de 1,4387 g, obteniéndose así un rendimiento del 95%. El producto fue guardado en un recipiente bajo atmósfera inerte para su uso posterior.

5.2. Purificación del Monómero 2-hidroxietil acrilato.

La purificación del monómero se llevó a cabo con el fin de extraer las posibles impurezas presentes en el mismo (ácido acrílico) así como el inhibidor de polimerización MEHQ (monometil éter de hidroquinona). Debido a la alta solubilidad tanto del monómero como de las impurezas e inhibidor en agua, se realizó una extracción ácido-base, en la cual la capa orgánica fue DCM y la acuosa una solución saturada de cloruro de sodio. La fase acuosa fue saturada con sal para hacer que el monómero quedara disuelto en el DCM mientras que los componentes más polares quedaron disueltos en la solución salina.

Luego de realizada la extracción, se sometió a secado al vacío las fracciones orgánicas, dando como resultado el monómero libre de impurezas, el cual resultó ser inestable a la luz, razón por la cual fue guardado y sellado bajo atmósfera inerte en el congelador. El volumen total remanente de monómero purificado fue de 9,7 mL mientras que el rendimiento de la reacción de purificación fue del 97%. El producto fue caracterizado por FTIR, dando como resultado las siguientes bandas características:

Enlace	Descripción^[38]	Señal obtenida (cm⁻¹)	Señal reportada (cm⁻¹)^[38]
O-H st	Vibración de tensión. Ancha: asociado	3430	3650-3200
C-H st	Vibración de tensión. Intensidad variable, frecuentemente varias bandas.	2954	3000-2840
C-H st	Vibración de tensión. Intensidad variable, frecuentemente varias bandas	2884	3000-2840
C=O st	Vibración de tensión. Intensa.	1731	1790-1650
CH₂ δ	Vibración de deformación. Intensidad media.	1455	1475-1450
O-H δ ip	Vibración de deformación y vibración en el plano.	1411	1450-1200
C-O st as	Vibración de tensión asimétrica. Intensa, a veces 2 bandas	1299	1330-1050
C-O st as	Vibración de tensión asimétrica. Intensa, a veces 2 bandas	1212	1330-1050
C-O st	Vibración de tensión. Intensa, en general doblete.	1060	1075-970
C-O st	Vibración de tensión. Intensa, en general doblete.	985	1075-970
C=CH₂ δ oop	Vibración de deformación fuera del plano.	811	1005-675
CH₂ γ	Vibración de esqueleto. Intensidad media.	736	770-720

Tabla 13. Señales observadas en el espectro de FTIR para la purificación del monómero 2-hidroxietil acrilato.

El espectro del monómero una vez purificado mostró una banda muy intensa y ancha banda correspondiente a la vibración de tensión del enlace O-H de uno de los extremos del monómero, la anchura de la misma se debe a las interacciones tipo puentes de hidrógeno intermoleculares que desarrolla el 2-hidroxiethyl acrilato. Otras bandas asociadas a la presencia del grupo hidroxilo en la molécula están en 1299, 1212, 1060 y 985 cm^{-1} atribuidas a las vibraciones tanto simétricas como asimétricas en el enlace C-O. La intensidad de estas bandas fue consecuencia de dos interacciones carbono-oxígeno presentes en el monómero, como lo son la del grupo hidroxilo y la del grupo carbonilo. La banda característica de carbonilos para ésteres se encuentra en 1731 cm^{-1} , presenta gran intensidad y anchura moderada. La razón por la cual la banda se encuentra en un número de onda más bajo respecto del éster del primer aminoácido anclado, viene dada por el entorno químico de cada uno, ya que el monómero presenta un sistemas α,β conjugado que ocasiona la disminución en su desplazamiento. Por debajo de 3000 cm^{-1} , en 2954 y 2884 cm^{-1} se encuentran las vibraciones de tensión de los enlaces C-H de los grupos alquílicos pertenecientes al radical etil del monómero. Los grupos alquílicos también pueden encontrarse identificados en las bandas 1455 y 736 cm^{-1} , así como la banda en 811 cm^{-1} , que corresponde a la vibración de deformación fuera del plano del enlace olefínico del monómero.

5.3. Polimerización del 2-hidroxiethyl acrilato. Síntesis de resina-péptido-polímero acrílico.

Al terminar la reacción de polimerización, se obtuvieron 0,1235 g de producto resina-péptido-polímero. La caracterización del producto se realizó por FTIR, dando las siguientes bandas:

Enlace	Descripción^[38]	Señal obtenida (cm⁻¹)	Señal reportada (cm⁻¹)^[38]
NH st	Vibración de tensión. Intensidad variable.	3585	3500-3100
NH st	Vibración de tensión. Intensidad variable.	3554	3500-3100
NH st	Vibración de tensión. Intensidad variable.	3537	3500-3100
arC-H st	Vibración de tensión. Generalmente varias bandas.	3062	3080-3030
arC-H st	Vibración de tensión. Generalmente varias bandas.	3023	3080-3030
C-H st	Vibración de tensión. Intensidad variable, frecuentemente varias bandas.	2928	3000-2840
C-H st	Vibración de tensión. Intensidad variable, frecuentemente varias bandas.	2841	3000-2840
C=O st (éster)	Vibración de tensión. Intensa.	1782	1790-1650
C=O st (éster)	Vibración de tensión. Intensa.	1744	1790-1650
C=O st (amida)	Vibración de tensión. Intensa.	1713	1740-1630
C=O st (amida)	Vibración de tensión. Intensa.	1674	1740-1630
C=O st (amida)	Vibración de tensión. Intensa.	1648	1740-1630
N-C=O st sim	Vibración de tensión simétrica. Intensa.	1584	1630-1510
C-O st	Vibración de tensión. Intensa, en general doblete.	1069	1075-970
C-O st	Vibración de tensión. Intensa, en general doblete.	1030	1075-970
C-Cl st	Vibración de tensión	693	750-550

Tabla 14. Señales observadas en el espectro de FTIR para la polimerización del monómero en la resina-péptido-iniciador.

Como puede verse en la tabla 14, se observan tres señales alrededor de los 3500 cm^{-1} , las cuales corresponden a las vibraciones de tensión de los tres grupos -N-H- del péptido. Es importante resaltar que no se percibe una señal para la vibración de tensión del grupo -O-H del monómero, esto posiblemente debido a interacciones entre los grupos -N-H- y los grupos O-H dentro de la resina, dando como resultado especies cargadas $-\text{NH}_2^+$ y $-\text{O}^-$, lo cual ocasiona la disminución o desaparición de la banda del grupo -O-H. La no presencia de dicha banda también puede ser consecuencia de un solapamiento entre las bandas correspondientes a esta región así como la cantidad relativa de grupos -O-H respecto a los grupos -N-H- dentro del producto. En la región cercana a 1700 cm^{-1} , se pueden contemplar varias bandas, 1782, 1744, 1713, 1674 y 1648 cm^{-1} , atribuidas a las vibraciones de tensión de los enlaces carbonílicos tanto de los ésteres (las dos con mayor número de onda) así como como las vibraciones de los grupos carbonílicos de la amidas (las tres con menor número de onda). Además se percibe una banda a 1584 cm^{-1} , característica de la vibración de tensión simétrica del grupo N-C=O de las amidas presentes. Asimismo, pueden distinguirse dos bandas en la región cercana a 1000 cm^{-1} , inherentes a la vibración de tensión del enlace C-O, la cual, por lo general, se observa como dos bandas, en este caso a 1069 y 1030 cm^{-1} . Por último, la banda ubicada en 693 cm^{-1} corresponde a la vibración de tensión del enlace C-Cl del iniciador.

5.4. Clivaje del Material Híbrido Péptido-Polímero de la Resina.

Al realizar el clivaje del material híbrido desde la resina, se obtuvo un aceite denso de color marrón claro. La poca cantidad obtenida no pudo ser cuantificada con los instrumentos disponibles en el laboratorio ($< 1,0\text{ mL}$). El hecho de haber obtenido un aceite y poca cantidad del mismo puede deberse a una polimerización poco efectiva, llegando a sintetizar un oligómero en lugar de un plástico. Debido a razones ajenas a nuestra voluntad, la caracterización del material fue llevada a cabo solamente con FTIR.

Enlace	Descripción^[38]	Señal obtenida (cm⁻¹)	Señal reportada (cm⁻¹)^[38]
O-H st	Vibración de tensión. Ancha: asociado	3465	3650-3200
=CH₂ st	Vibración de tensión. Intensidad media.	3057	3095-3055
C-H st	Vibración de tensión. Intensidad variable, frecuentemente varias bandas.	2935	3000-2840
C-H st	Vibración de tensión. Intensidad variable, frecuentemente varias bandas.	2871	3000-2840
C=O st (éster)	Vibración de tensión. Intensa.	1778	1790-1650
C=O st (amida)	Vibración de tensión. Intensa.	1676	1740-1630
N-C=O st sim	Vibración de tensión simétrica. Intensa.	1549	1630-1510
C-C=O st	Vibración de tensión. Intensidad media.	1269	1330-1050
C-O st	Vibración de tensión. Intensa, en general doblete.	1095	1075-970
NH δ ip	Vibración de deformación en el plano.	738	≈ 700
NH δ ip	Vibración de deformación en el plano.	704	≈ 700
C-Cl st	Vibración de tensión	680	750-550

Tabla 15. Señales obtenidas en el espectro de FTIR para el clivaje del material híbrido péptido-polímero desde la resina.

El espectro nos muestra una banda ancha en 3465 cm^{-1} , correspondiente a la vibración del grupo -O-H cuando el mismo se encuentra asociado. Esta amplitud en la banda ocasiona que no puedan observarse las bandas correspondientes a las vibraciones de tensión de los grupos -N-H- presentes en el péptido. Se realizó una deconvolución de dicha banda pero no pudo lograrse la misma, debido a la anchura que presenta. En 3057 cm^{-1} , se percibe una banda, la cual es característica de la vibración de tensión de los enlaces olefínicos, lo cual nos indica la presencia de un doble enlace en uno de los extremos del producto ocasionado por una reacción de terminación, en particular, la desproporción. Por debajo de 3000 cm^{-1} encontramos dos bandas, 2935 y 2871 cm^{-1} , atribuidas a las vibraciones de tensión de los enlaces sencillos C-H de los grupos $\text{-CH}_2\text{-}$ del producto.

Se observan dos bandas, en 1778 y 1676 cm^{-1} , correspondientes a vibraciones de tensión de los enlaces carbonílicos de los diferentes grupos funcionales del producto. Debido a la anchura de las bandas, se realizó una deconvolución de las mismas, dando como resultado cuatro curvas equivalentes a cuatro bandas, atribuidas al enlace C=O del ácido, del éster y de las amidas, como puede verse en la figura 28. La tabla 16, nos muestra los valores máximos de cada curva en 1780 , 1754 , 1677 y 1644 , que a su vez son los valores de longitud de onda de cada banda. También puede resaltarse el ancho de cada banda, siendo la ubicada en 1644 cm^{-1} la de mayor valor, con lo cual la asignación de las bandas procede de la siguiente forma: en 1780 cm^{-1} , la vibración del enlace C=O del extremo ácido, la banda en 1754 cm^{-1} corresponde a la vibración de tensión del enlace C=O del éster del polímero, mientras que las bandas en 1677 y 1644 cm^{-1} son típicas para las vibraciones de tensión de los grupos -NH- en polipéptidos. Para la banda de longitud de onda de 1549 cm^{-1} , tenemos la vibración de tensión simétrica del grupo N-C=O .

Otra banda de gran importancia que nos muestra el espectro, esta ubicada en 1269 cm^{-1} , correspondiente a la vibración de tensión de los enlaces del grupo C-C=O , característica para ácidos y ésteres. La banda ubicada en 1095 cm^{-1} es atribuida a la vibración de tensión de los enlaces C-O-C , relativo a ésteres más no para ácidos, por lo cual sólo se presenta una sola banda. Esto nos proporciona evidencia espectroscópica de la presencia del polímero en el producto. Por debajo de los 1000 cm^{-1} , encontramos tres bandas; las bandas en 738 y 704 cm^{-1} vienen dadas por las vibraciones de deformación en el plano de los enlaces de los grupos $-\text{NH}-$. Por último, la banda en 680 cm^{-1} pertenece a la vibración de tensión del enlace C-Cl del iniciador presente en el extremo de alguna de las cadenas de polímero.

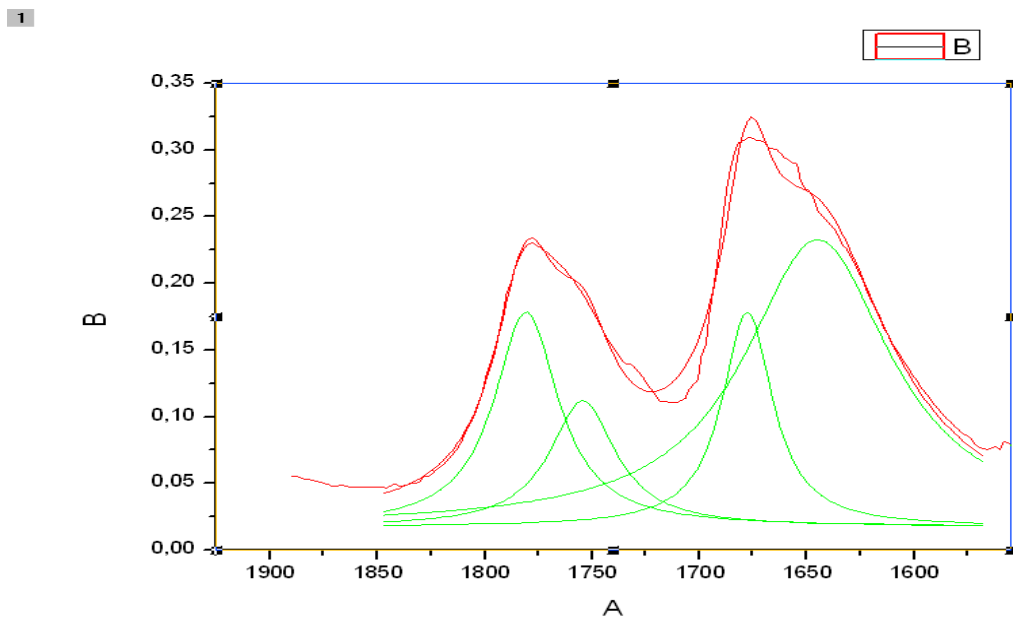


Figura 14. Gráfico de deconvolución del espectro del material híbrido en un rango de 1900 a 1500 cm^{-1} .

Pico	Ancho de pico	Área de la curva
1780,59	36,45	9,22
1754,30	37,39	5,55
1677,62	28,43	7,20
1644,91	83,17	28,08

Tabla 16. Descripción de las curvas obtenidas a través de la deconvolución del espectro del material híbrido.

CONCLUSIONES

- Por medio de la síntesis planteada, se logró la síntesis de un copolímero S-DVB, el cual presenta poca porosidad y morfología esférica, con un tamaño de esfera promedio de 50 μm .
- Debido al bajo grado de funcionalización de la resina de Merrifield sintetizada, el anclaje del primer aminoácido no fue efectivo.
- La resina 2-clorotritilo demostró ser más adecuada y efectiva para la síntesis en fase sólida que la resina de Merrifield.
- A través del procedimiento de síntesis presentado, se logró sintetizar una cadena peptídica de tres aminoácidos, así como el producto resina-péptido-iniciador.
- Se llevó a cabo la polimerización del 2-hidroxietil acrilato por ATRP en fase sólida anclado al producto resina-péptido.
- La metodología experimental diseñada permitió la obtención de un material híbrido péptido-polímero acrílico: Gly-Gly-Gly-poli(2-hidroxietil acrilato).

RECOMENDACIONES

- Sintetizar la resina 2-clorotritilo y compararla tanto con la misma disponible a nivel comercial, como con la resina de Wang.
- Utilizar otros aminoácidos protegidos con FMOC, así como aumentar la cadena peptídica.
- Realizar una copolimerización del 2-hidroxietil acrilato con metil metacrilato, ya sea por polimerización en bloque o alternante.
- Aumentar la eficiencia en el proceso de polimerización opr ATRP probando otros iniciadores, como α -holaésteres.
- Probar con ligandos nitrogenados tri o tetradentados alifáticos o aromáticos.

BIBLIOGRAFÍA

[1] Matyjaszewski, K.; Xia, J. Atom Transfer Radical Polimerization, *Chem. Rev.* **2001**, 101, 2921-2990.

[2] Matyjaszewski, K.; Wang, J.-S. Controlled/"Living" Radical Polimerization. Atom Transfer Radical Polimerization in the Presence of Transition-Metal Complexes. *J. Am. Chem. Soc.* **1995**, 117, 5614-5615.

[3] Beers, K.; Boo, S.; Gaynor, Scott.; Matyjaszewski, K. Atom Transfer Radical Polimerization of 2-Hidroxyethyl Methacrylate. *Macromolecules.* **1999**, 32, 5772-5776.

[4] Robinson, K. L.; Khan, M. A.; de Paz Bández, M. V.; Wang, X. S.; and Armes, S. P. Controlled Polimerization of 2-hidroxyethyl Methacrylate by ATRP at Ambient Temperature. *Macromolecules.* **2001**, 34, 3155-3158.

[5] <http://www.eis.uva.es/~macromol/curso05-06/medicina/principal.htm> **2008**.

[6] Merrifield, R. B. Solid-Phase Peptide Synthesis. An Improved Synthesis of Bradykinin. *J. Am. Chem. Soc.* **1964**, 3(9), 1385-1390.

[7] Becker, M. L.; Liu, J.; Wooley, K. Peptide-polymer bioconjugates: hybrid block copolymers generated *via* living radical polimerization from resin-supported peptides. *Chem. Comm.* **2003**, 180-181.

[8] Rösler, A.; Klok, H.-A.; Hamley, I. W.; Castelletto, V.; and Mykhaylyk, O. Nanoscale structure of Poly(Ethylene Glycol) Hybrid Block Copolymers containing Amphiphilic β -Strand Peptide Sequences. *BioMacromolecules.* **2003**, 4(4), 859-863.

- [9] Mei, Y.; Beers, K.; Byrd, H. C.; Vanderhart, D. L.; and Washburn, N. R. Solid-Phase ATRP Synthesis of peptide-Polymer Hybrids. *J. Am. Chem. Soc.* **2004**, 126, 3472-3476.
- [10] Billmeyer, F. Textbook of Polymer Science. 2^a edición, pp 3-4. Wiley International Edition. Estados Unidos. **1971**.
- [11] Billmeyer, F. Textbook of Polymer Science. 2^a edición, p 343. Wiley International Edition. Estados Unidos. **1971**.
- [12] Billmeyer, F. Textbook of Polymer Science. 2^a edición, pp 343-345. Wiley International Edition. Estados Unidos. **1971**.
- [13] Billmeyer, F. Textbook of Polymer Science. 2^a edición, pp 356-359. Wiley International Edition. Estados Unidos. **1971**.
- [14] Billmeyer, F. Textbook of Polymer Science. 2^a edición, pp 280-283. Wiley International Edition. Estados Unidos. **1971**.
- [15] Flory, P. J. Mechanism of Vinyl Polymerizations. *J. Am. Chem. Soc.* **1937**, 59, 241-253.
- [16] Braunecker, W. A.; Matyjaszewski, K. Recent mechanistic developments in atom transfer radical polymerization. *J. of Molecular Catalysis A: Chemical.* **2006**, 254, 155-164.
- [17] "Living"/Controlled Radical Polymerization. Transition-Metal-Catalyst Atom Transfer Radical Polymerization in the Presence of a Conventional Radical Initiator. *Macromolecules.* **1995**, 28, 7572-7573.

[18] Ma, H.; Wan, Z.; Chen, X.; and Zhou, Q.-F. Reverse of Atom Transfer Radical Polymerization of Methyl Methacrylate in Room-Temperature Ionic Liquids. *J. Polym. Sci. Part A: Polym. Chem.* **2003**, 41, 143-151.

[19] Shi, Y.; Fu, Z. F.; Zhang, Y. D. ; and Jiao, S. K. Synthesis of Comblike Poly(methyl methacrylate) by Atom Transfer Radical Polymerization with Poly(ethyl-2-bromoacrylate) as Macroinitiator. *Chinese Chemical Letters.* **2003**, 14(12), 1289-1292.

[20] Ashford, E. J.; Naldi, V.; O'Dell, R.; Billingham, N. C.; and Armes, S. P. First example of the atom transfer radical polymerization of an acidic monomer: direct synthesis of methacrylic acid copolymers in aqueous media. *Chem. Comm.* **1999**, 1285-1286.

[21] Schubert, U. S.; Hochwimmer, G.; Spindler, C. E.; and Nuyken, O. Controlled polymerization of methylmethacrylate *tris*(4,4'-dimethyl-2,2'-bipyridine) copper (II) hexafluorophosphate complexes and aluminium isopropoxide. *Polym. Bull.* **1999**, 43, 319-326.

[22] Haddleton, D. M.; Clark, A. J.; Crossman, M. C.; Duncalf, D. J.; Heming, A. M.; Morsley, S. R.; and Shooter, A. J. Atom transfer radical polymerization (ATRP) of methyl methacrylate in the presence of radical inhibitors. *Chem. Comm.* **1997**, 1173-1174.

[23] Huang, Z.; Zhang, Y.; Li, H.; and Liu, Y. A novel immobilized cobalt(II)/copper(II) bimetallic catalyst for atom transfer radical polymerization (ATRP) of methyl methacrylate. *Applied Catalysis A: General.* **2007**, 332, 192-199.

[24] Fréchet, J. M.; Smet, M. D. ; and Farral, M. J. Application of Phase-Transfer Catalysis to the Chemical Modification of Cross-Linked polystyrene Resins. *J. Org. Chem.* **1979**, 44(11), 1774-1778.

- [25] Marshall, D. L. A modified Support for Solid-Phase Peptide Synthesis Which Permits the Synthesis of Protected Peptide Fragments. *J. Org. Chem.* **1970**, 35(3), 867-869.
- [26] Pepper, K. W.; Paisley, H. M.; and Young, M. A. Properties of Ion-exchange Resins in Relation to Their Structure. Part VI. Anion-exchange Resins derived from Styrene-Divinylbenzene Copolymers. *J. Chem. Soc.* **1953**, 4097-4105.
- [27] Itsuno, S.; Uchikoshi, K.; and Ito, K. Novel Method for Halomethylation of Cross-Linked Polystyrenes. *J. Am. Chem. Soc.* **1990**, 112, 8187-8188.
- [28] Hodge, P. Polymer-supported organic reactions: what takes place in the beads?. *Chemical Society Reviews.* **1997**, 26, 417-424.
- [29] Borgia, J. A.; Fields, G. B. Chemical synthesis of proteins. *Trends in Biology.* **2000**, 18(6), 243-251.
- [30] Montalbetti, C. A.; Falque, V. Amide bond formation and peptide coupling. *Tetrahedron.* **2005**, 61(46), 10827-10852.
- [31] Han, S.-Y.; Kim, Y.-A. Recent development of peptide coupling reagents in organic synthesis. *Tetrahedron.* **2004**, 60(11), 2447-2467.
- [32] Atherton, E.; Fox, H.; Harkiss, D.; Logan, C. J.; Sheppard, R. C.; and Williams, B. J. A Mild Procedure for Solid Phase Peptide Synthesis: Use of Fluorenylmethoxycarbonylamino-acids. *Chem. Comm.* **1978**, 537-539.

[33] Carpino, L. A.; Albericio, F. Coupling Reagents and Activation. *Methods Enzymol.* **1997**, 289, 104-126.

[34] Marder, O.; Albericio, F. Industrial applications of coupling reagents in peptides. *Chimica OGGI.* **2003**, 6-11.

[35] Capitillo, D. *Síntesis y funcionalización de un copolímero de estireno y divinilbenceno y su posible aplicación como soporte en la síntesis en fase sólida.* Trabajo Especial de Grado, Facultad de Ciencias, UCV, **2006**.

[36] Barlos, K. Darstellung geschützter peptid-fragmente unter einatz substituierter triphenylmethyl-harze. *Tetrahedron Letters.* **1989**. 3943-3946.

[37] Malesevic, M. β -Amino Acids as Secondary Structure Inducers in Peptides. Dissertation submitted to the Faculty of Chemistry, University of Bielefeld for partial fulfillment of the requirements for the degree of Doctor rerum naturalium (Dr. rer. Nat.). **2002**.

[38] Pretsch, E.; Clerc, T.; Seibl, J.; Simon, W. *Tablas para la Elucidación Estructural de Compuestos Orgánicos por Métodos Espectroscópicos.* 1ª edición, p.p 178-215. Alhambra. España. **1980**.

ANEXOS

1. Síntesis del Copolímero estireno-divinilbenceno (S-DVB).



Figura 15. Copolímero de estireno-divinilbenceno sintetizado.

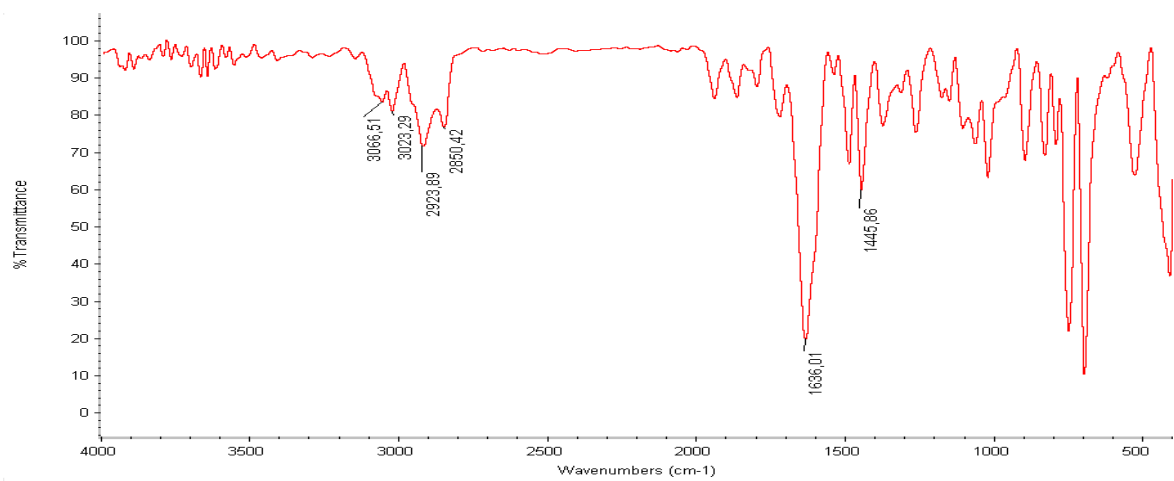


Figura 16. Espectro de FTIR del copolímero estireno-divinilbenceno S-DVB).

2. Síntesis del clorometil metil éter.

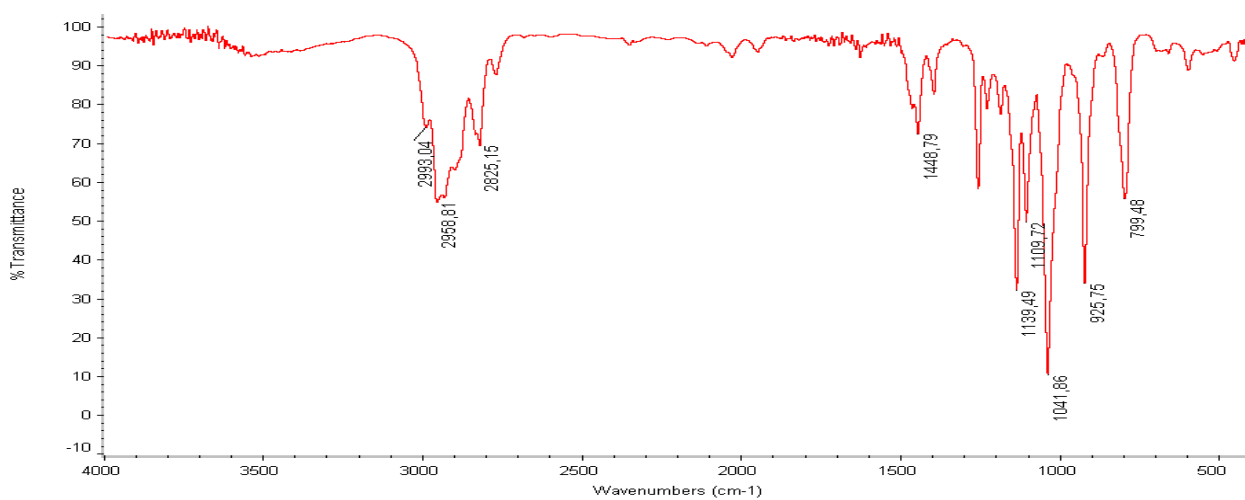


Figura 17. Espectro de FTIR del clorometil metil éter (CME) sintetizado.

3. Funcionalización del S-DVB con el CME.



Figura 18. Resina de Merrifield sintetizada.

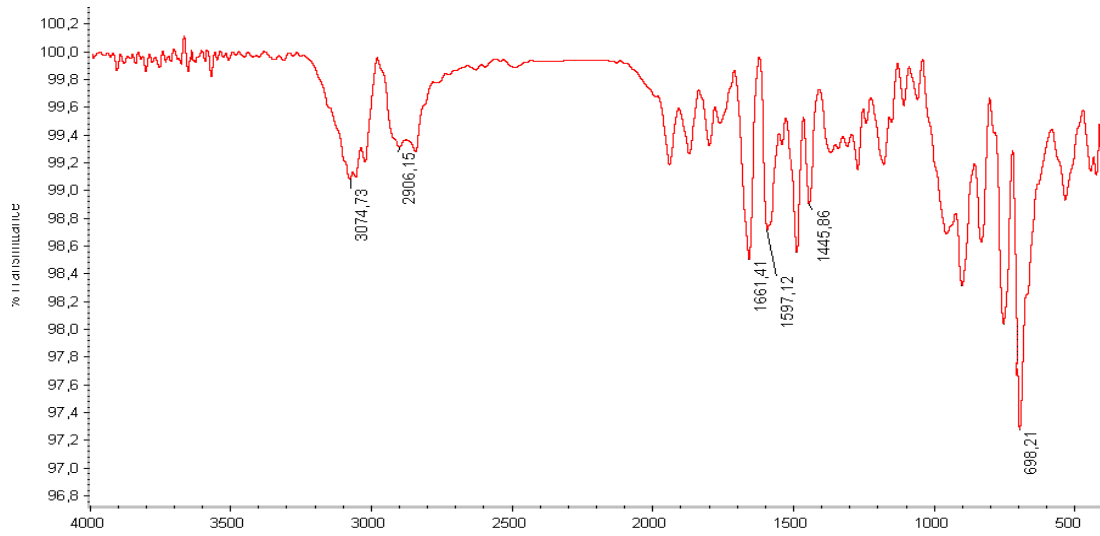


Figura 19. Espectro de la resina de Merrifield sintetizada.

3.1. Determinación del grado de funcionalización de la resina de Merrifield sintetizada.

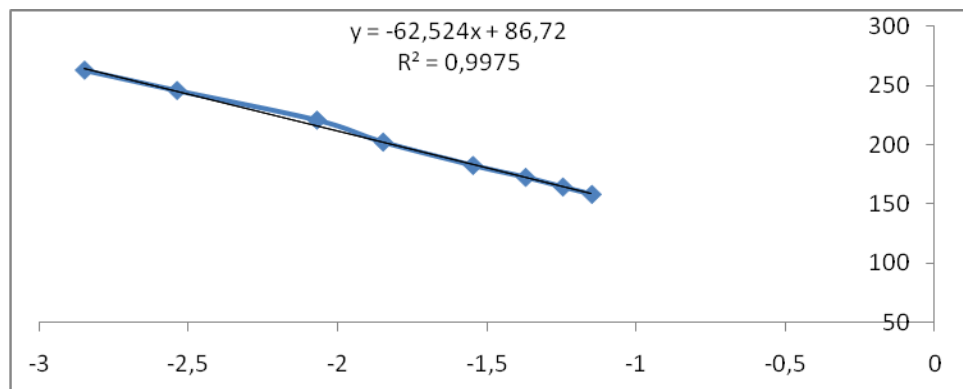


Figura 20. Gráfica de los potenciales de los patrones de Cl preparados.

4. Síntesis de un péptido de cadena corta.

4.1. Anclaje del primer aminoácido a la resina.

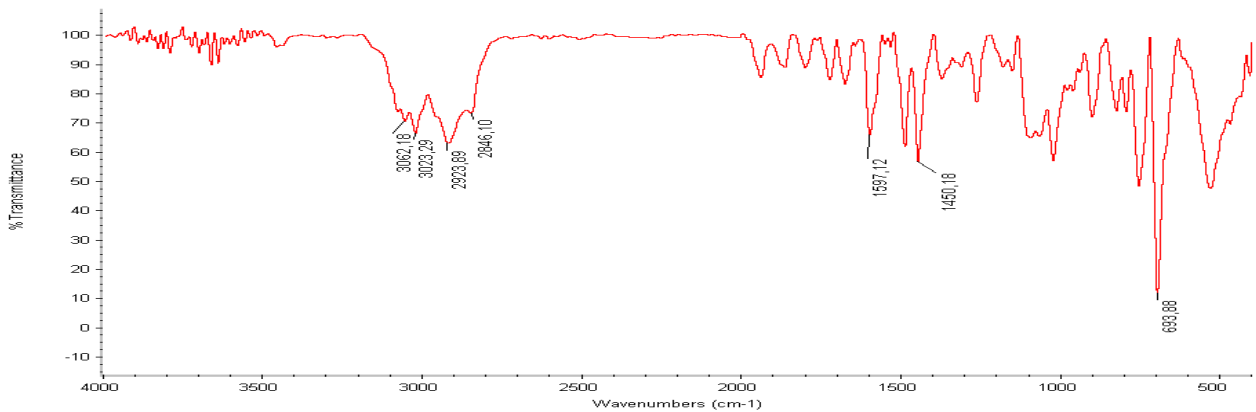


Figura 21. Espectro de FTIR de la resina de Merrifield después del anclaje del primer aminoácido.

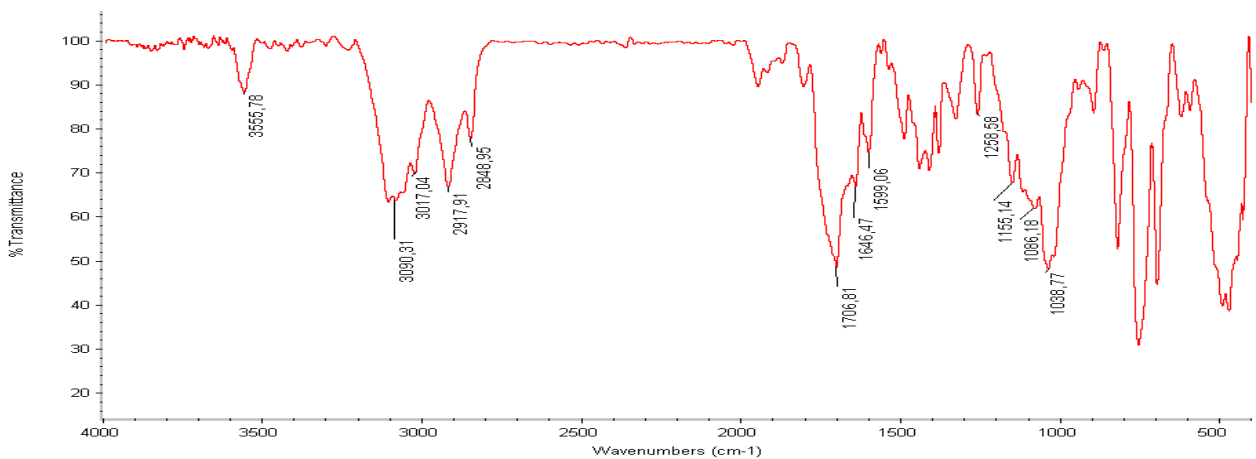


Figura 22. Espectro de FTIR de la resina 2-clorotritilo después del anclaje del primer aminoácido.

La ecuación utilizada para determinar el nivel de anclaje del primer aminoácido a la resina es la siguiente:

$$\text{anclaje Fmoc} = \text{mmol aminoácido/g resina} = \text{Abs}_{\text{muestra}} / (1,65 \times \text{mg de resina})$$

Figura 23. Ecuación para la determinación del contenido de aminoácido en la resina.

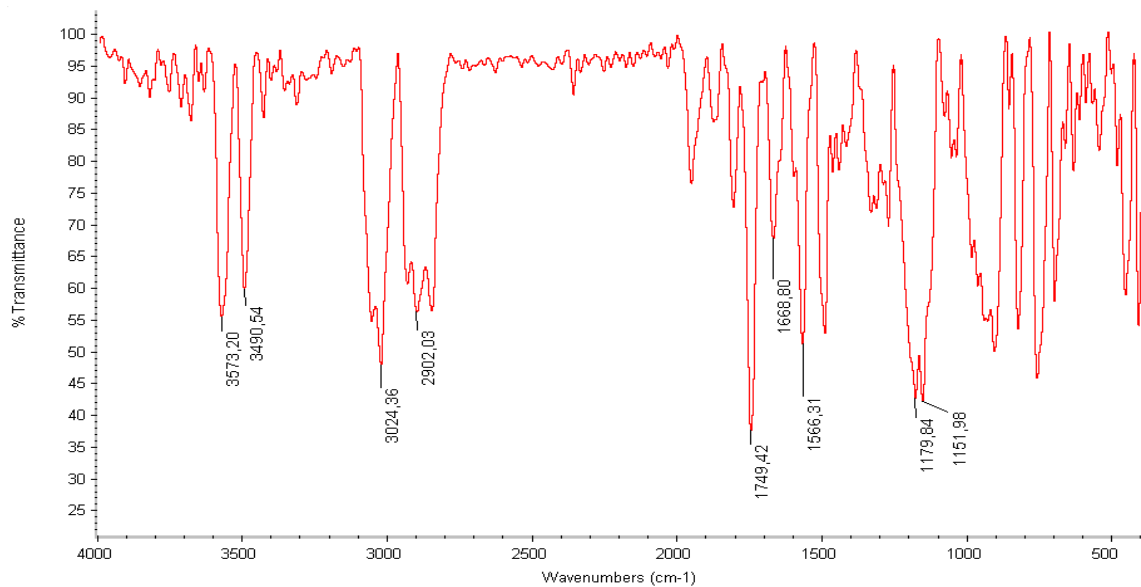


Figura 24. Espectro de FTIR una vez bloqueados los sitios activos.

4.2. Desprotección del primer aminoácido anclado

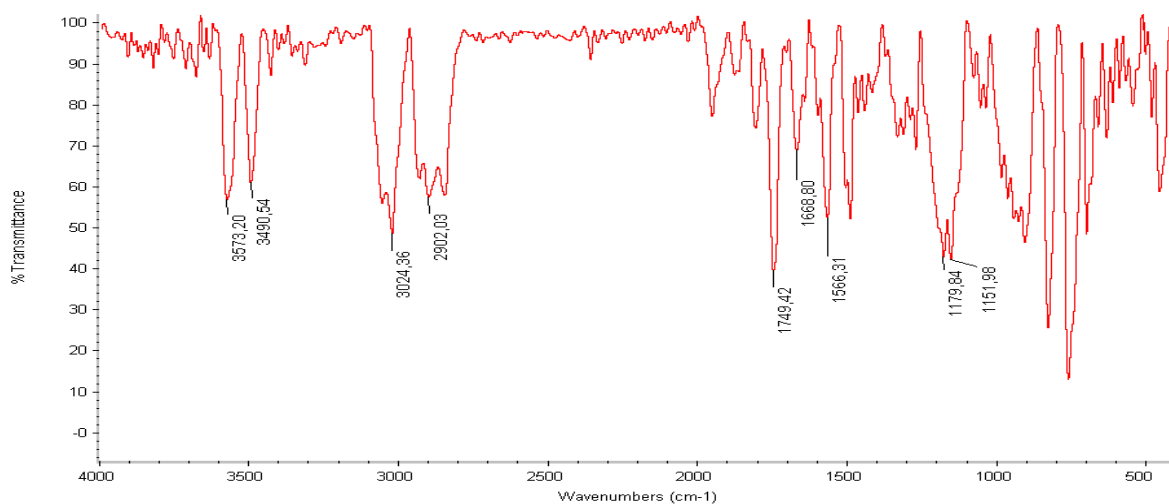


Figura 25. Espectro de FTIR después de la desprotección del primer aminoácido anclado.

4.3. Anclaje del segundo aminoácido.

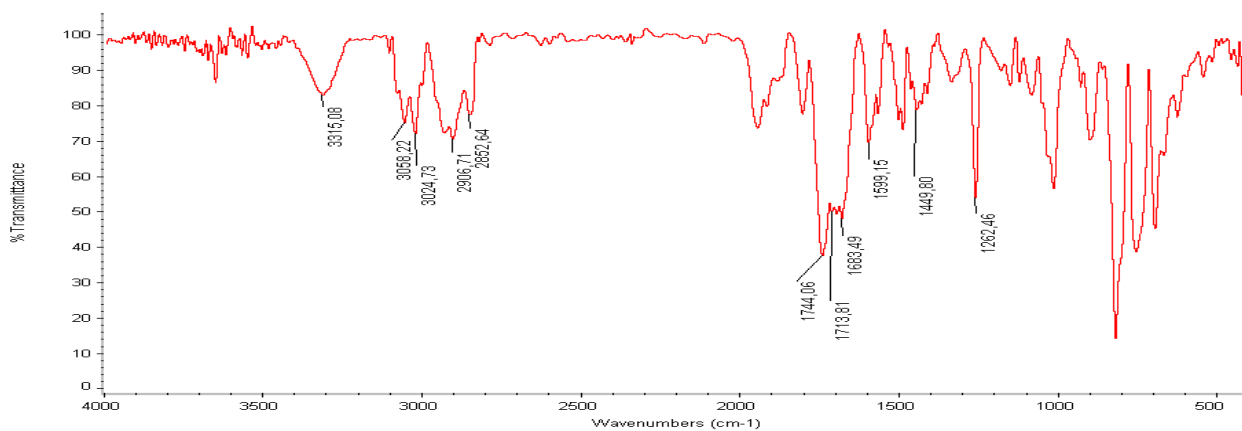


Figura 26. Espectro de FTIR después del anclaje del segundo aminoácido.

4.4. Desprotección del segundo aminoácido.

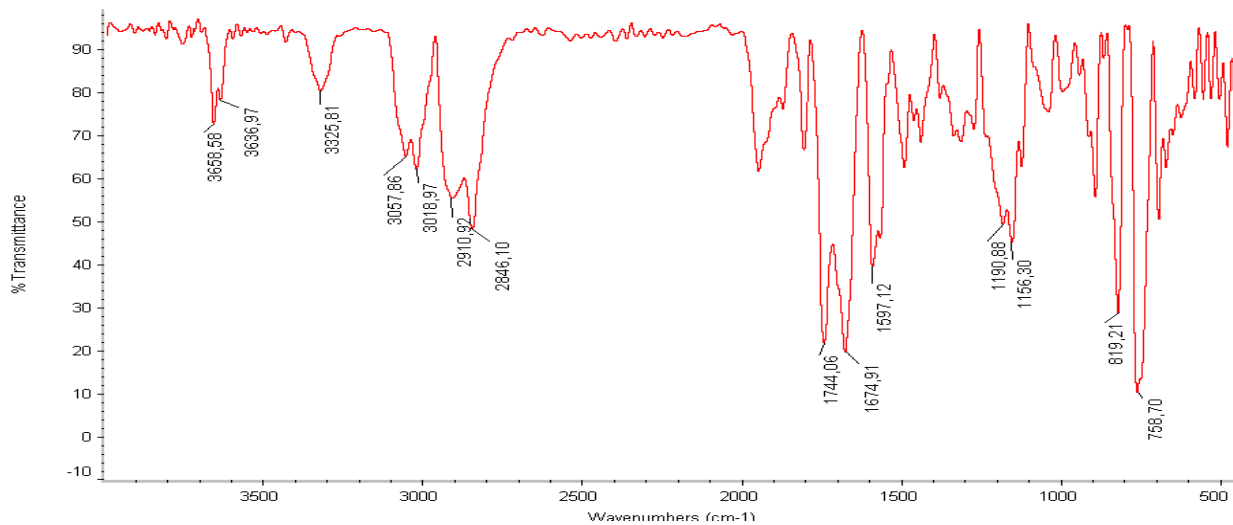


Figura 27. Espectro de FTIR después de la desprotección del segundo aminoácido.

4.5. Anclaje del tercer aminoácido.

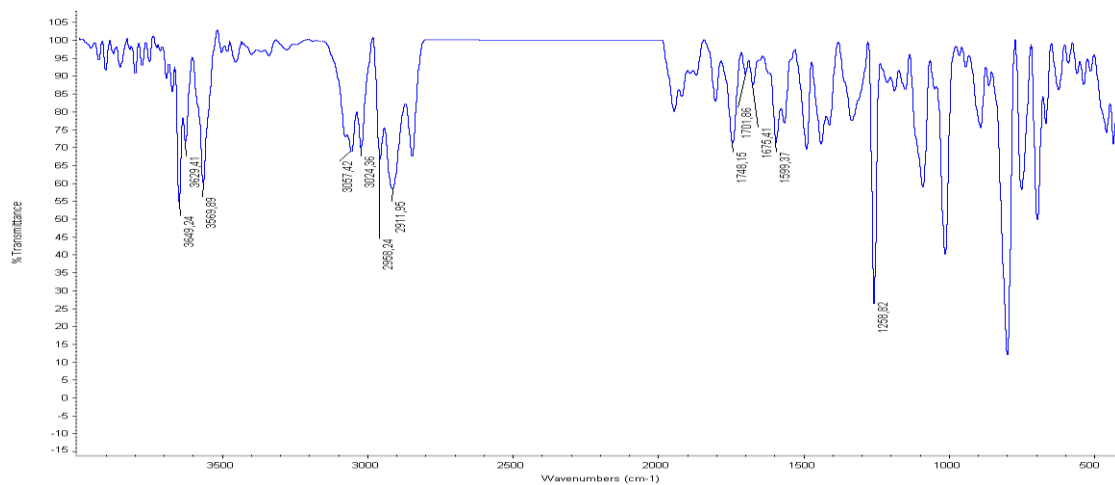


Figura 28. Espectro de FTIR después del anclaje del tercer aminoácido.

4.6. Desprotección del tercer aminoácido.

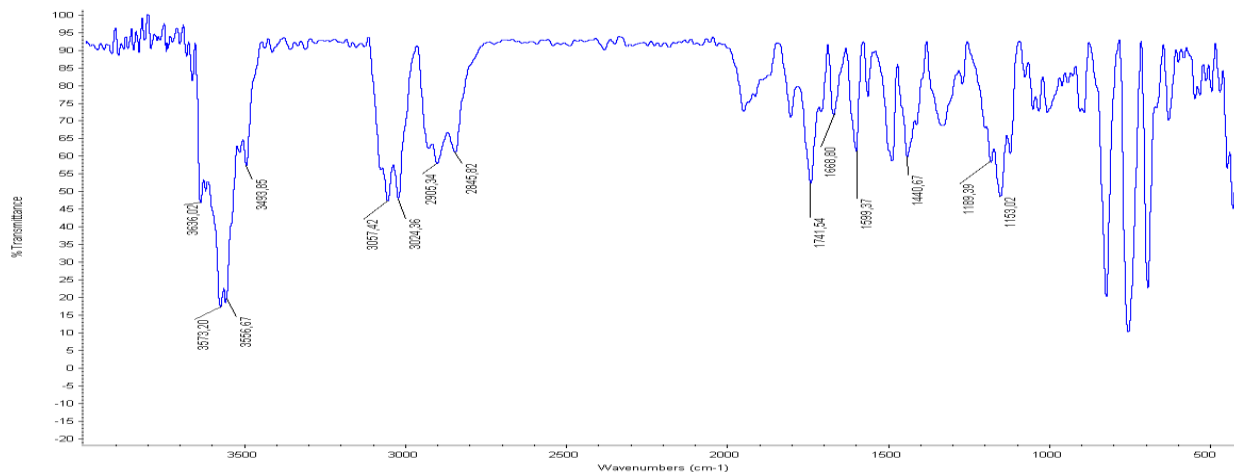


Figura 29. Espectro de FTIR después de la desprotección del tercer aminoácido.

4.7. Síntesis del iniciador cloruro de cloroacetilo.

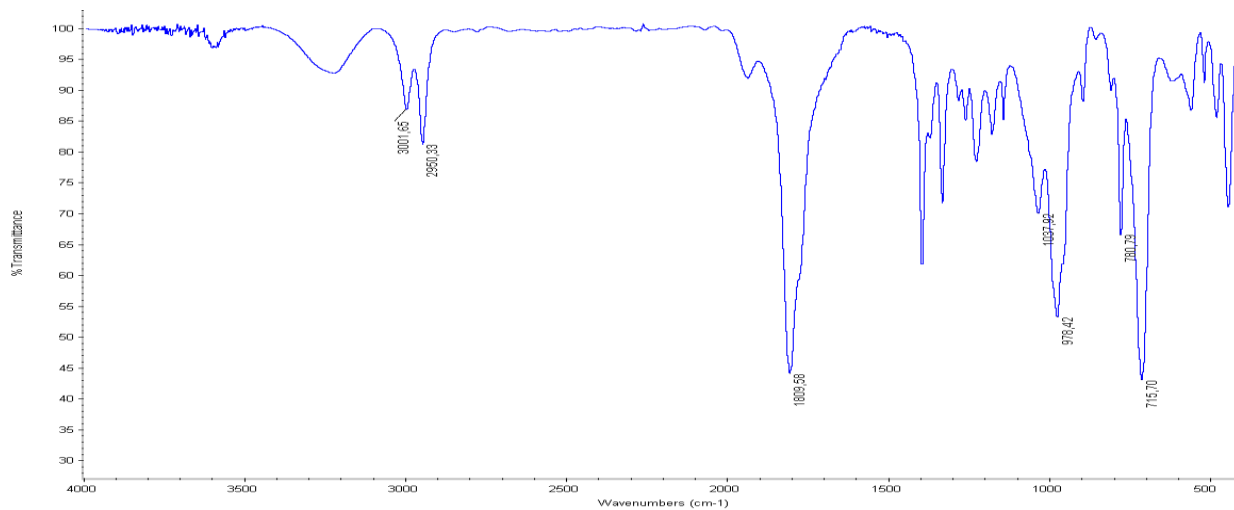


Figura 30. Espectro de FTIR del iniciador cloruro de cloroacetilo.

4.8. Anclaje del iniciador a la resina.

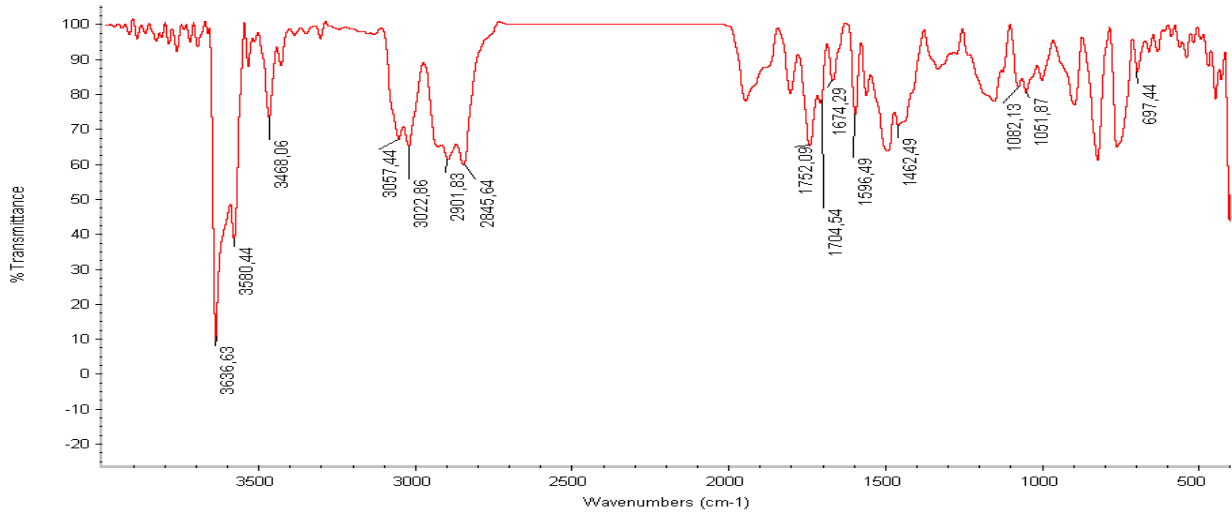


Figura 31. Espectro de FTIR después del anclaje del iniciador a la resina-péptido.

5. Síntesis de un material híbrido péptido-polímero acrílico.

5.1. Purificación del Cloruro de Cobre (I)

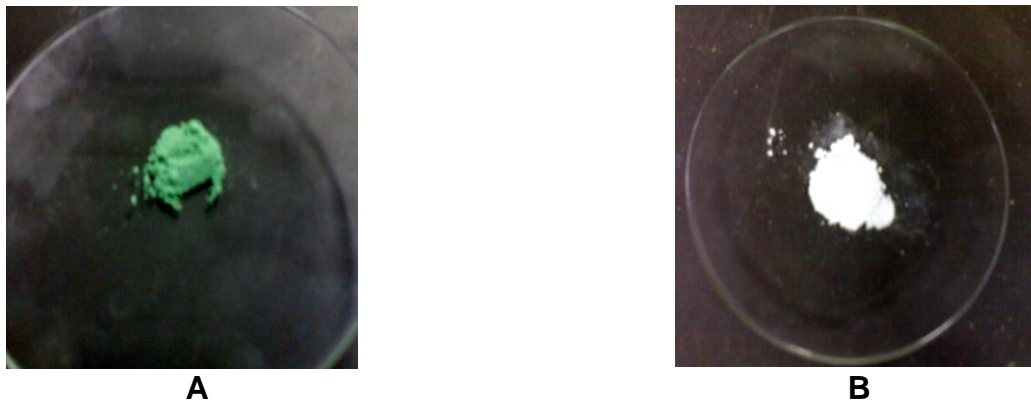


Figura 32. Cloruro de Cobre (I): **A)** antes de purificar y **B)** después de purificar.

5.2. Purificación del monómero 2-hidroxietil acrilato.

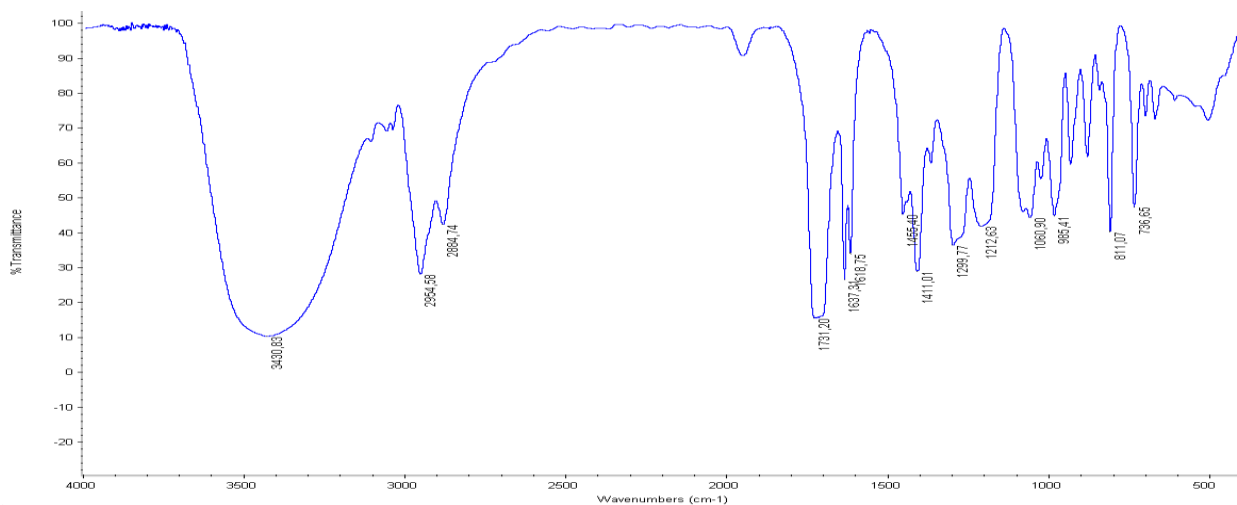


Figura 33. Espectro de FTIR del monómero una vez purificado.

5.3. Polimerización del 2-hidroxietil acrilato.

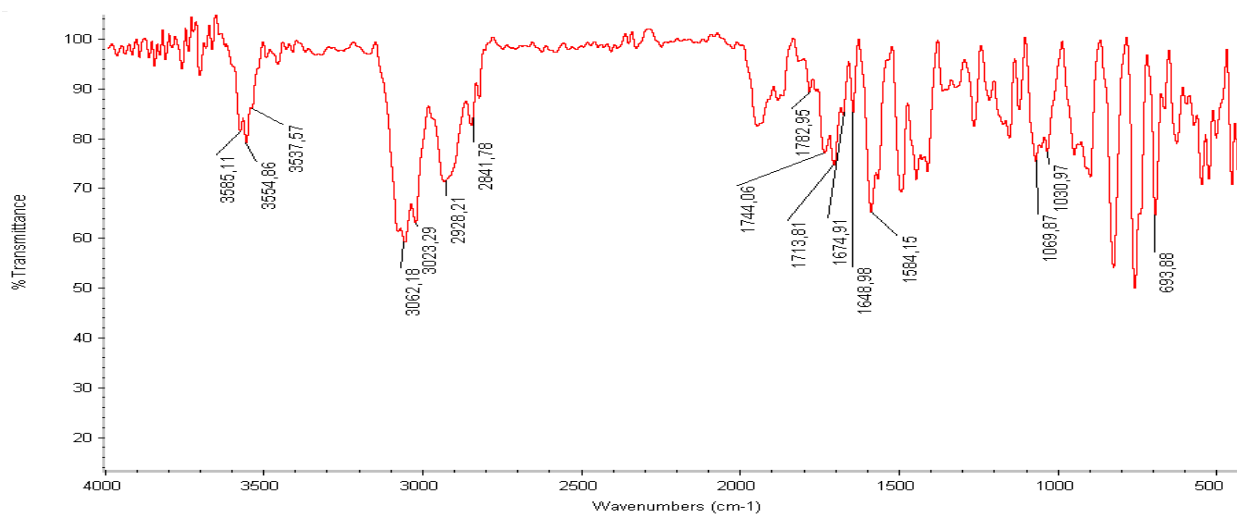


Figura 34. Espectro de FTIR después de la polimerización del monómero.

5.4. Clivaje del material híbrido de la resina.

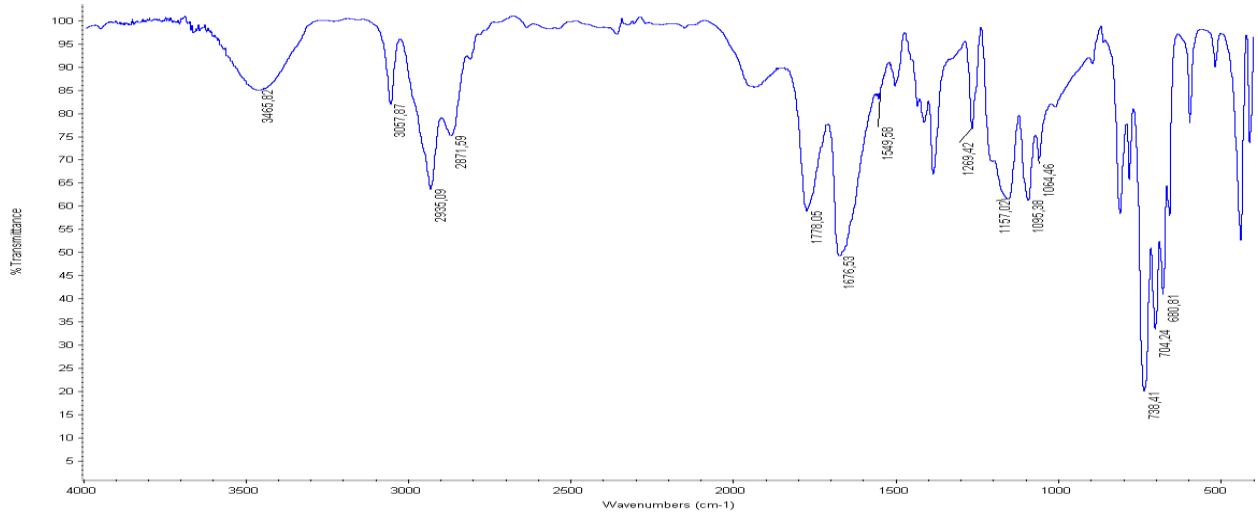


Figura 35. Espectro de FTIR del material híbrido péptido-polímero acrílico.