

*Estrategias de Obtención y Modificación de  
Materiales Poliméricos de Interés:  
Síntesis, Caracterización y Posibles  
Aplicaciones*

---

Guido Noé Rimondino

# *Estrategias de Obtención y Modificación de Materiales Poliméricos de Interés: Síntesis, Caracterización y Posibles Aplicaciones*

Tesis para optar al grado de Doctor en Ciencias Químicas

Licenciado en Química  
Guido Noé Rimondino



---

I M B I V

Laboratorio de Materiales Poliméricos  
Instituto Multidisciplinario de Biología Vegetal  
Departamento de Química Orgánica  
Facultad de Ciencias Químicas  
2015

Licenciado en Química  
Guido Noé Rimondino

Directora:

Dra. Marisa Martinelli

Comisión Evaluadora:

Dra. Cecilia I.  
Álvarez Igarzabal

Dra. Ma. Soledad  
Celej

Dr. Álvaro F.  
Jimenez Kairuz

Evaluador Externo:

Dr. Luis M. Gugliotta  
(INTEC – Universidad Nacional del Litoral)

*No está mal sumergirme otra vez  
Ni temer que el río sangre y calme  
Se bucear en silencio*

*Tarda en llegar  
Y al final  
Al final  
Hay recompensa*

*Soda Stereo  
"Zona de Promesas"*

## Resumen

En este trabajo de Tesis se abordaron diferentes estrategias de síntesis y modificación de materiales poliméricos altamente novedosos, como así también su caracterización y posibles aplicaciones en campos relacionados con la biomedicina.

En primera instancia se sintetizaron polímeros dendronizados a partir de la modificación de polímeros naturales o mediante la síntesis y posterior polimerización de un monómero dendrítico del Tipo Newkome.

Además, se prepararon redes poliméricas expandibles mediante dos metodologías diferentes. Por un lado se evaluó el entrecruzamiento covalente de polímeros lineales, mientras que la otra vía consistió en la polimerización y entrecruzamiento de monómeros vinílicos comerciales o previamente sintetizados. Así, diversos hidrogeles fueron obtenidos, destacándose entre ellos hidrogeles sensibles a estímulos, tales como el cambio de temperatura o el valor de pH del medio.

En tercer punto, se evaluó la incorporación de polímeros dendronizados dentro de hidrogeles sensibles a estímulos, a fin de obtener materiales del tipo interpenetrados dendronizados altamente novedosos.

Por último, la obtención de nuevos sistemas en escala manométrica fue realizada tomando como base los materiales que mejores características presentaron a escala macrométrica. De esta manera, se prepararon nanogeles interpenetrados dendronizados con multifuncionalidad regulada, y también nanogeles dendronizados con respuesta dual a estímulos. Estos últimos fueron evaluados como sistemas de liberación controlada de un fármaco antineoplásico modelo como lo es el *cis*-Pt, obteniéndose resultados prometedores que indican que podría ser utilizado de manera eficiente en aplicaciones biomédicas.

## Agradecimientos

Agradecimientos, uff... la parte que uno deja para el final, cuando ya estás cansado y resulta que es lo más difícil de escribir! Nunca pensé que tratar de plasmar en unas carillas todo lo que gané durante casi siete años (e indefectiblemente recordar todo lo que perdí también) fuera más complicado que escribir toda la Tesis. Vamos a ver que sale.

En primer lugar quiero agradecer a la Universidad Nacional de Córdoba, la Facultad de Ciencias Químicas y a CONICET. Gracias por formarme con una educación de calidad, por brindarme un lugar de trabajo y todas las facilidades que en pocos lugares uno puede encontrar.

A la Ceci, Sole y "J", mi comisión de Tesis, que año tras año veían con cara rara los avances en mis resultados. Gracias por la dedicación y los consejos, los cuales siempre fueron útiles y traté de aplicarlos.

Gracias a Luis, por recibir una Tesis de arriba, leerla y realizar sus aportes para que este trabajo quede un poco más pulido.

A la Mari, la witch. Yo mismo se lo difícil que puede ser trabajar conmigo. Por más de tener nuestras diferencias, se lo bancó! Y salió sana y salva, casi ilesa... Felicitaciones.

Gracias al LaMaP. Sería desacertado nombrar a todos los que pasaron por este grupo tan dinámico por estos casi siete años, seguro me olvidaría de alguien. Sin embargo quiero agradecer particularmente a las siguientes personas: Gaby, Juli y Ariel, de quienes aprendí muchísimo y con quienes crecí como químico y como persona, gracias por el apoyo y el aguante que me dieron en mis primeros pasos en el lab. Y también gracias a quienes hoy por hoy son más que amigos en el laburo, son cómplices en todas las idioteces que hago día a día, la Jime y David, gracias por hacer de este sucucho un lugar un poquito más alegre.

Al AG Calderón por compartir el tiempo de mi estadía en Berlín y enseñarme a creer en lo que no se ve, lo nano.

A Gustavo, simplemente gracias por haber confiado en mí y permitirme vivir, no una, ni dos, sino tres veces una de las experiencias más lindas relacionadas con la investigación científica.

No puedo no agradecer a todas las personas con las que compartí momentos en estos años, de todos se aprende, para bien o para mal. Pero principalmente quiero agradecer a los Infradotados, los Zanjeros, los Antárticos y tantos otros, en definitiva a mis amigos que me bancan, soportan, escuchan, alientan y divierten. Que aburrido sería laburar sin Uds. cerca (o a la distancia!). En especial quiero agradecer la amistad de dos personas sumamente importantes para mí, dos amigas de fierro, Juli, desde hace ya mucho tiempo, y Fati, que en poco tiempo se hizo querer mogollón.

A mi grupo adoptivo, los Naturales, esas maravillosas personas del otro lado del pasillo que considero más amigos que compañeros de trabajo. Especialmente al "Doc", Vivi, Manuela, Carina, Eze y Seba, quienes ya no se pueden arrepentir de haberme dejado ser parte del grupo!

Por último y no menos importante, a mi familia, en especial a mis viejos, quienes nunca me criticaron por haber elegido la locura de estudiar química y todo lo que ello trajo y trae aparejado, por la fortaleza con la que aguantaron mi mal humor y por haberme enseñado a "no parar hasta conseguirlo".

Seguro me olvido de alguien, sepan disculparme, pero ya les va a tocar estar quemados de la cabeza por culpa de la Tesis, la bendita Tesis!!!

# *Índice General*

---

## Índice General

|   |    |
|---|----|
| Introducción General  | 1  |
| Introducción general  | 3  |
| Moléculas dendríticas   | 3  |
| Redes poliméricas expandibles   | 11 |
| Objetivos de trabajo  | 14 |
| Materiales y Equipamientos Generales  | 21 |
| Materiales empleados  | 23 |
| Solventes, sales, ácidos y bases  | 27 |
| Equipamiento y metodologías   | 29 |
| Parte I: Polímeros dendronizados. Síntesis y<br>caracterización   | 31 |
| Antecedentes y Generalidades  | 35 |
| Capítulo 1: Sistemas basados en biopolímeros.<br>Dendronización y modificación de quitosán  | 43 |
| Planteo Experimental  | 45 |
| Métodos   | 45 |
| Síntesis de quitosán dendronizado ( <i>Ch-Weis</i> )  | 45 |
| Estimación del grado de dendronización (%D)   | 46 |
| Síntesis de <i>Ch-Weis</i> hidrolizado ( <i>Ch-WeisCOOH</i> )   | 46 |
| Síntesis de <i>Ch-Weis</i> cuaternarizado<br>( <i>Ch-Weis-GTMAC</i> )   | 47 |
| Resultados y Discusión  | 48 |
| Quitosán dendronizado ( <i>Ch-Weis</i> )  | 48 |
| Métricas relacionadas a la Química Sustentable<br><i>Ch-Weis</i> hidrolizado ( <i>Ch-WeisCOOH</i> ) y <i>Ch-Weis</i><br>cuaternarizado ( <i>Ch-Weis-GTMAC</i> ) | 54 |
| Conclusiones Parciales  | 63 |
| Capítulo 2: Polímeros basados en Aminotriéster.<br>Síntesis y caracterización de monómeros y polímeros<br>dendronizados   | 65 |
| Planteo Experimental  | 67 |
| Métodos   | 67 |

|  |     |
|--|-----|
| Síntesis de cloruro de acrililoilo ( <i>AcCl</i> )                                       | 67  |
| Síntesis de ácido 4-acriloilamino-4-(carboxietil)heptanodioico ( <i>ABC</i> )            | 68  |
| Polimerización de <i>ABC</i> ( <i>poli(ABC)</i> )  | 68  |
| Resultados y Discusión   | 70  |
| Monómero dendrítico <i>ABC</i>   | 70  |
| Polímero dendronizado <i>poli(ABC)</i>   | 75  |
| Conclusiones Parciales   | 78  |
| Referencias  | 79  |
| Parte II: Hidrogeles. Síntesis, caracterización y estudio de sus propiedades             | 83  |
| Antecedentes y Generalidades   | 85  |
| Capítulo 3: Redes expandibles basadas en polímeros lineales entrecruzados covalentemente | 93  |
| Planteo Experimental   | 95  |
| Métodos  | 95  |
| Síntesis de polímeros lineales   | 95  |
| Síntesis de poli(ácido itacónico)( <i>poli(IA)</i> )                                     | 95  |
| Síntesis de quitosán cuaternarizado ( <i>Ch-GTMAC</i> )                                  | 96  |
| Síntesis de agente entrecruzante   | 97  |
| Síntesis de dihidrazida de ácido adípico ( <i>DAA</i> )                                  | 97  |
| Preparación de hidrogeles  | 97  |
| Poli( <i>IA</i> ) entrecruzado con <i>DAA</i>  | 97  |
| Alginato de sodio entrecruzado con <i>DAA</i>  | 98  |
| <i>Ch-GTMAC</i> entrecruzado con glutaraldehído  | 98  |
| <i>Ch-GTMAC</i> entrecruzado con genipina  | 99  |
| Resultados y Discusión   | 100 |
| Síntesis y caracterización de polímeros lineales   | 100 |
| Poli(ácido itacónico) ( <i>poli(IA)</i> )  | 100 |
| Quitosán cuaternarizado ( <i>Ch-GTMAC</i> )  | 104 |
| Síntesis y caracterización de agente entrecruzante                                       | 108 |
| Dihidrazida de ácido adípico ( <i>DAA</i> )  | 108 |
| Preparación de hidrogeles a partir de polímeros lineales                                 | 110 |

|  |     |
|--|-----|
| Poli(IA) entrecruzado con DAA  | 111 |
| Ch-GTMAC entrecruzado con genipina   | 113 |
| Conclusiones Parciales   | 115 |
| Capítulo 4: Redes expandibles obtenidas a partir de monómeros y entrecruzantes vinílicos | 117 |
| Planteo Experimental   | 119 |
| Métodos  | 119 |
| Hidrogeles basados en HEMA o NiPAm   | 119 |
| Hidrogeles dendronizados basados en NiPAm y ABC  | 120 |
| Resultados y Discusión   | 122 |
| Hidrogeles basados en HEMA   | 123 |
| Homopolímero HEMA 100%   | 125 |
| Copolímeros HEMA-AI y HEMA-AEMA  | 126 |
| Hidrogeles basados en NiPAm  | 131 |
| Homopolímero NiPAm 100% y copolímeros NiPAm-ABC  | 131 |
| Conclusiones Parciales   | 138 |
| Referencias  | 139 |
| Parte 3: Redes poliméricas interpenetradas dendronizadas                                 | 145 |
| Antecedentes y Generalidades   | 147 |
| Capítulo 5: Sistemas interpenetrados basados en HEMA o NiPAm                             | 153 |
| Planteo Experimental   | 155 |
| Métodos  | 155 |
| Materiales IPN basados en poli(HEMA) y Ch dendronizado                                   | 155 |
| Materiales IPN basados en poli(NiPAm) y poli(ABC)  | 156 |
| Resultados y Discusión   | 157 |
| Materiales IPN basados en poli(HEMA) y Ch dendronizado                                   | 157 |
| Materiales IPN basados en poli(NiPAm) y poli(ABC)  | 159 |

|  |     |
|--|-----|
| Conclusiones Parciales   | 165 |
| Referencias  | 166 |
| Parte IV: Sistemas nanoscópicos. Síntesis, caracterización y potenciales aplicaciones      | 169 |
| Antecedentes y Generalidades   | 171 |
| Capítulo 6: Nanogeles dendronizados copoliméricos termo y pH sensibles basados en NiPAm    | 177 |
| Planteo Experimental   | 179 |
| Métodos  | 179 |
| Preparación de NG copoliméricos basados en NiPAm   | 179 |
| Cargado y liberación de <i>cis</i> -Pt   | 180 |
| Resultados y Discusión   | 181 |
| Nanogeles basados en NiPAm y ABC   | 181 |
| Cargado y liberación de <i>cis</i> -Pt   | 195 |
| Conclusiones Parciales   | 198 |
| Capítulo 7: Nanogeles semi interpenetrados dendronizados con multifuncionalidad controlada | 201 |
| Planteo Experimental   | 203 |
| Métodos  | 203 |
| Preparación de NG NiPAm 100%   | 203 |
| Preparación de NG <i>semi</i> IPN NiPAm 100% + poli(ABC)                                   | 203 |
| Resultados y Discusión   | 205 |
| NG <i>semi</i> IPN NiPAm 100% + poli(ABC)  | 205 |
| Conclusiones Parciales   | 215 |
| Referencias  | 216 |
| Anexo: Campañas Antárticas de Verano   | 221 |
| Antecedentes y Generalidades   | 223 |
| Capítulo 8: Campañas Antárticas de Verano  | 229 |
| Planteo Experimental   | 231 |
| Métodos  | 231 |
| Resultados y Discusión   | 232 |
| Referencias  | 234 |
| Conclusiones Generales   | 237 |
| Conclusiones Generales   | 239 |

## Índice General



# *Introducción General*

---

## Introducción General

Para establecer un marco introductorio a los temas que se desarrollan, se analizarán, de manera breve y concisa, dos aspectos fundamentales discutidos en los diferentes Capítulos de este trabajo. Los dos pilares que formaron el sustento de este trabajo de Tesis Doctoral son, a entender, el empleo de *moléculas dendríticas*, con las cuales se realizó la obtención y/o modificación de polímeros, y la preparación de diversas *redes poliméricas expandibles*.

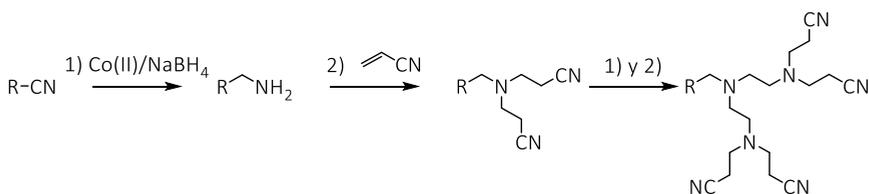
### Moléculas dendríticas

Hablar de arquitecturas dendríticas refiere directamente a una de las topologías más difundidas a lo largo de la evolución. Innumerables ejemplos pueden ser citados en este caso, tales como cristales de hielo, sistemas fractales naturales, árboles, sistemas vasculares, neuronas, y tantos otros. Sin duda, existen razones más que válidas para suponer que estos sistemas fueron perfeccionados a lo largo de millones de años para poder, quizás, maximizar u optimizar aspectos energéticos, nutricionales o los referidos al transporte de información<sup>1</sup>.

En el año 1941, Flory y colaboradores mostraron evidencia teórica y experimental de la existencia de sistemas poliméricos tridimensionales ramificados<sup>2</sup>. Este estudio fue la primera aproximación que trató de imitar a los sistemas dendríticos naturales a nivel de laboratorio. Algunas otras consideraciones sobre las propiedades de estos sistemas poliméricos se realizaron, pero no fue hasta un par de décadas atrás, que el estudio sistemático de este tipo de arquitecturas tuvo su auge.

Recién en 1978, Vögtle y colaboradores presentaron la primera síntesis de una macromolécula ramificada a la que llamaron "*tipo pulpo*"<sup>3</sup>. La obtención y caracterización de un material monodisperso y de

conformación en capas repetitivas o *generaciones* se realizó mediante una síntesis en cascada o de pasos iterativos. El método sintético viable, empleado para la construcción de una macromolécula polifuncional, resultó ser el ensamble de estructuras a un centro multifuncional, mediante repetición de pasos similares, dando lugar a lo que se conoce como síntesis divergente, tal como muestra el Esquema I.



*Esquema I: Síntesis divergente o en cascada presentada por Vögtle y colaboradores.*

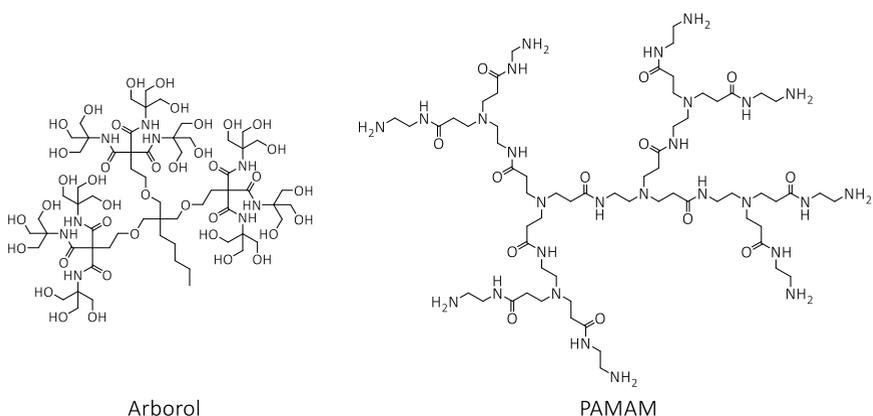
Este trabajo sirvió de base para que Tomalia y Newkome, ambos en el año 1985, abordaran la síntesis divergente de nuevas moléculas dendríticas, cada uno por estrategias diferentes.

George Newkome presentó la metodología sintética y el estudio espectral de polioles esféricos, a los que denominó *arbores*<sup>4</sup>. Estas estructuras macromoleculares se lograron a partir de una secuencia de amidación de un triéster, generando arquitecturas tridimensionales que crean microambientes interiores y además ubican los mencionados grupos alcohol en la superficie de la macromolécula.

Por su parte, Donald Tomalia reportó la síntesis secuencial de la primera familia completa de dendrímeros del tipo poli(amidoamina) en conformación “*tipo estrella*” de tamaños controlados, a partir de N-(2-aminoetil)acrilamida<sup>5</sup>. Tal fue el alcance de estas estructuras y la facilidad que presentó su preparación, que hasta el día de hoy es uno de los dendrímeros más ampliamente estudiados, a la vez que fue la primera

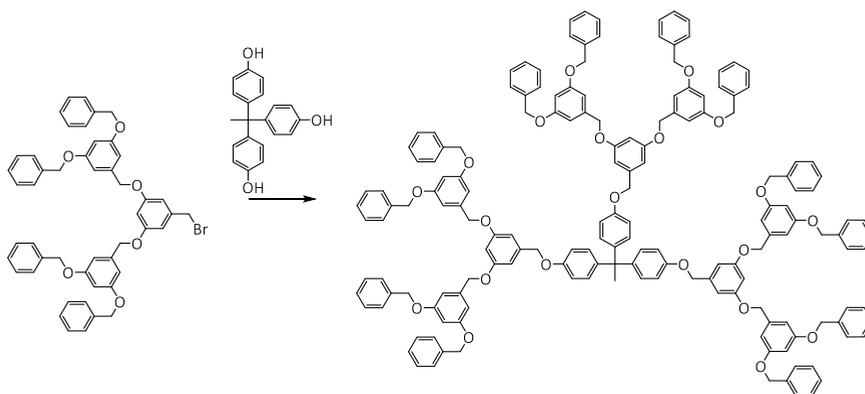
familia de este tipo de polímeros en ser comercializada bajo la denominación PAMAM<sup>6</sup>.

La Figura I muestra las estructuras químicas de los arbores de y de PAMAM.



*Figura I: Estructura química de las moléculas dendríticas presentadas por Newkome y Tomalia.*

Cinco años más tarde en 1990, Fréchet y Hawker presentaron una metodología de ensamble de macromoléculas para la obtención de poli(aril éteres)<sup>7</sup>. Este hecho significó el primer reporte de síntesis de moléculas dendríticas por una metodología convergente, en la cual, pre-ensambles se unen a una molécula polifuncional a la que se denomina *corazón multifuncional*. De esta manera, se aumenta el control sintético en relación a la metodología de síntesis divergente, minimizando los defectos en la arquitectura molecular. El Esquema II muestra una representación de lo publicado por los autores.



*Esquema II: Síntesis convergente de poli(aril éteres) publicada por Fréchet y Hawker.*

Probablemente, estos antecedentes implicaron la base de la química de dendrímeros, siendo el punto de partida de innumerables trabajos referidos a la síntesis, caracterización y aplicaciones de estas estructuras peculiarmente interesantes.

Hoy en día, los polímeros dendríticos son reconocidos como una de las cuatro clases principales de arquitecturas macromoleculares<sup>1</sup>, junto a los polímeros lineales, los ramificados y los entrecruzados. Además, las moléculas dendríticas, en general, pueden ser subclasificadas en polímeros hiperramificados<sup>8</sup>, los denominados *dendrigrraft*<sup>9</sup>, dendrímeros o dendrones. Una representación de esta subclasificación se puede apreciar en la Figura II.



*Figura II: Representación de la subclasificación de las moléculas dendríticas.*

Si bien todas las subclases comparten su alta densidad de ramificación, solo los dendrimeros y los dendrones tienen un estricto control estructural, dando como consecuencia macromoléculas de pesos moleculares definidos y la consecuente baja polidispersidad.

En particular, y debido a que fueron los materiales mayoritariamente empleados en este trabajo, podemos definir a los dendrones como una sección constituyente de un dendrímtero, por lo que comparte muchas de sus características. De esta manera, en ambas arquitecturas podemos destacar la presencia de tres tipos de regiones claramente definidas<sup>10</sup>. La Figura III muestra las diferentes regiones encontradas para dendrimeros y dendrones.

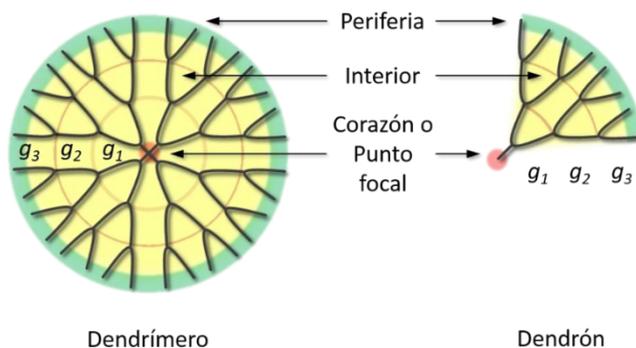
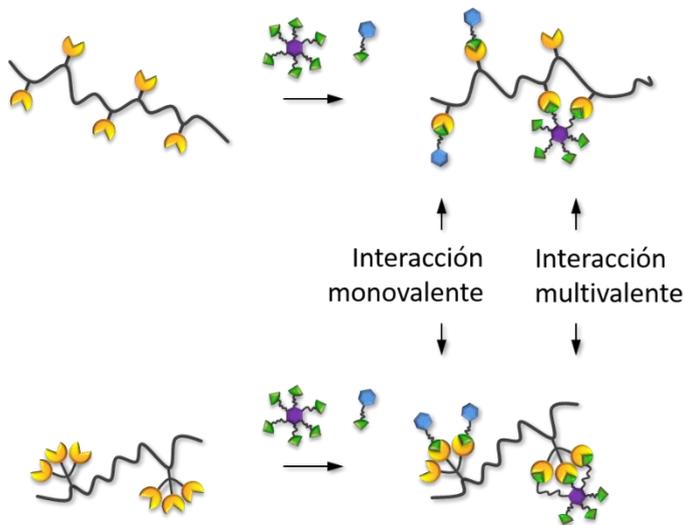


Figura III: Representación de los componentes estructurales principales de un dendrímero y un dendrón.

En el centro del dendrímero se ubica el *corazón* polifuncional, desde donde nacen todas las ramificaciones y es quien orienta la forma, tamaño, direccionalidad y multiplicidad de las capas siguientes. Dado que un dendrón representa solo una fracción conformacional de un dendrímero, no se obtiene multifuncionalidad desde este punto sino que encontramos un *punto focal* desde donde crece la macromolécula. Entre este punto focal y la periferia o superficie externa, se encuentra el *interior*, en donde las múltiples ramificaciones amplifican la estructura. El número de ramificaciones que existen desde el corazón hacia el exterior define la *generación* ( $g$ ) de la molécula. Por último, se tiene la *superficie* o *periferia*, en donde se encuentran los grupos funcionales que se exponen al medio, definiendo las propiedades macroscópicas de la molécula dendrítica<sup>11,12</sup>.

A medida que un dendrímero aumenta en generación, es decir el número de ramificaciones desde el centro a la periferia, la morfología del mismo comienza a tornarse globular<sup>1</sup>. Además, la disposición espacial de los grupos funcionales en la periferia de la macromolécula da lugar a la aparición nuevos efectos sinérgicos.

El concepto de polivalencia o multivalencia, es decir la interacción simultánea entre múltiples funcionalidades como un todo, provocando propiedades únicas y diferentes a las que se obtienen mediante interacciones monovalentes, cobra mayor importancia en moléculas dendríticas, las que pueden establecer más efectivamente este tipo de interacciones<sup>13,14</sup>. La Figura IV muestra una representación de los diferentes tipos de interacciones anteriormente descritas.



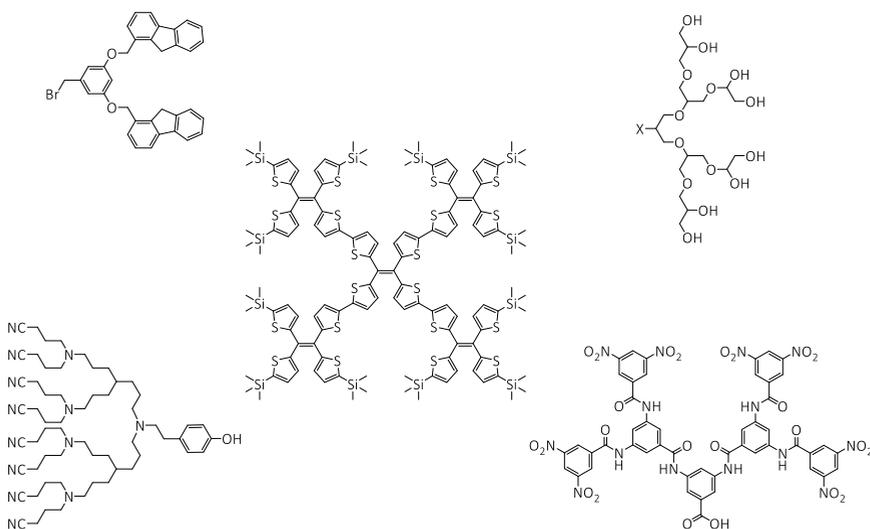
*Figura IV: comparación entre interacciones monovalentes y multivalentes.*

El fenómeno de multivalencia gobierna muchas de las interacciones biológicas, como por ejemplo la de un virus con membranas celulares o eventos de reconocimiento de proteínas o material genético por parte de la misma membrana<sup>15</sup>.

Todas las características mencionadas con anterioridad, brindan acceso a una química fascinante, con posibilidad de modificar las propiedades o las

posibles aplicaciones de estas estructuras modificando una o varias de las partes constituyentes mencionadas.

Dadas las particularidades de estos materiales, nuevas estructuras dendríticas han sido preparadas a partir de diversos precursores<sup>16-20</sup>, tal como se puede observar en la Figura V.



*Figura V: ejemplos de diferentes estructuras dendríticas sintetizadas en los últimos años.*

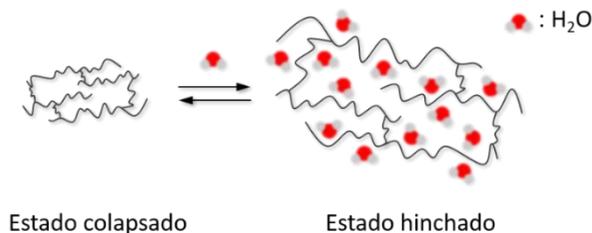
Dada la variedad de estructuras diseñadas, de modificación de sus grupos periféricos, o bien la combinación de dos o más estructuras en una misma macromolécula<sup>21,22</sup>, la posibilidad de dirigir estos materiales a diversos campos de aplicación resulta muy variada.

Principalmente en los últimos años, se han utilizado moléculas dendríticas como sistemas de liberación controlada de fármacos o moléculas de interés<sup>23-26</sup>, agentes teragnósticos<sup>27</sup>, sistemas dirigidos a la terapia

génica<sup>14,21,28,29</sup>, entre otras aplicaciones. El marcado aumento en el uso de estos materiales en los campos mencionados ha permitido obtener importantes beneficios frente a sistemas convencionales.

## Redes Poliméricas Expandibles

Por otro lado, el segundo pilar teórico de este trabajo fueron la redes poliméricas expandibles. Los gels son definidos como redes poliméricas tridimensionales, formadas a partir de compuestos de origen natural o sintético. Las mismas son capaces de conferir un alto grado de flexibilidad dado principalmente por la presencia de una gran cantidad de solvente de hinchamiento presente en sus intersticios o poros. Particularmente, los materiales del tipo gel capaces de hincharse y retener agua o fluidos biológicos, son denominados como *hidrogeles*. Estos materiales que se caracterizan por su elasticidad y ser suaves al tacto en estado hinchado, presentan gran similitud a los tejidos vivos, convirtiéndolos en excelentes candidatos para su uso en gran cantidad de aplicaciones<sup>30,31</sup>. La Figura VI muestra una representación esquemática del equilibrio entre el estado colapsado y el estado hinchado o expandido que se presenta en la mayoría de los hidrogeles.



*Figura VI: representación esquemática del equilibrio entre fases de un hidrogel.*

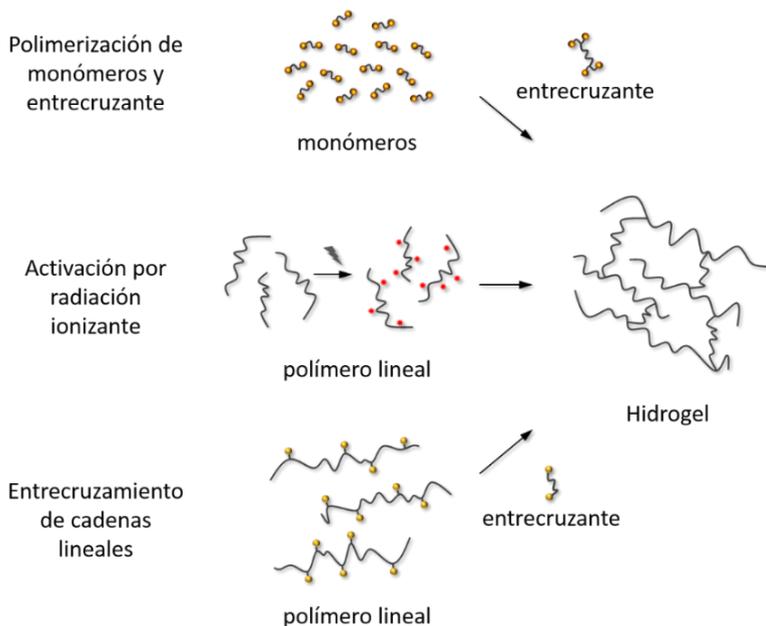
A partir de diversos tipos de modificaciones químicas o físicas, las propiedades de estas estructuras que presentan alta porosidad, pueden ser fácilmente controladas por ejemplo aumentando la densidad de entrecruzamiento entre las cadenas poliméricas o la afinidad de la matriz polimérica con el solvente en la que es hinchada.

La clasificación de los hidrogeles puede realizarse teniendo en cuenta diversos parámetros<sup>30,32-34</sup>. Una de las más básicas es clasificar a estos materiales considerando la naturaleza de sus componentes. Así se puede diferenciar entre hidrogeles naturales, obtenidos por polimerización y/o entrecruzamiento de biomoléculas; e hidrogeles sintéticos, que abarcan una amplia variedad de materiales sintetizados en el laboratorio.

También, se pueden clasificar teniendo en cuenta el tipo de uniones que mantiene la conformación del material. Por un lado, se tiene hidrogeles físicamente entrecruzados en donde la red polimérica se genera a partir de interacciones débiles entre las cadenas de polímero, dando como resultado un material que puede captar y retener agua, pero al no existir interacciones covalentes entre sus componentes, pueden llegar a disolverse en el solvente de hinchamiento. Varios ejemplos de este tipo de entrecruzamientos pueden encontrarse en redes mantenidas por interacciones puente hidrógeno, interacciones hidrofóbicas, coordinación de iones o química supramolecular. Por otro lado, los hidrogeles con uniones químicas o covalentes presentan la ventaja de poseer puntos de entrecruzamiento permanentes, que solo en algunos casos pueden ser revertidos por reacciones químicas.

Por último, otra de las clasificaciones que se puede mencionar es según su carga eléctrica que posee el material. De este modo existen geles neutros o no iónicos; materiales iónicos, los que según la naturaleza química de sus componentes pueden ser catiónicos o aniónicos; geles anfóteros que presentan dualidad entre grupos ácidos y básicos; y geles zwitteriónicos, que presentan simultáneamente grupos aniónicos y catiónicos en su estructura.

Con respecto a las metodologías de polimerización para la obtención de estos productos, se puede mencionar que la técnica más frecuentemente empleada es la polimerización de monómeros hidrofílicos y un entrecruzante o molécula al menos bifuncional, vía radicales libres en solución acuosa<sup>35-39</sup>. La otra vía consiste en el entrecruzamiento de cadenas de polímeros lineales. Para este propósito, existen tres alternativas principales: el entrecruzamiento de cadenas lineales a partir de reacciones químicas con un entrecruzante polifuncional<sup>40,41</sup>; el uso de radiación ionizante que genera radicales en las cadenas poliméricas, que luego se recombinan para dar el gel deseado<sup>31,33,42</sup>; y por último el empleo de iones metálicos polivalentes o diversas estructuras que funcionen como entrecruzantes físicos o químicos<sup>43-45</sup>. La Figura VII muestra una representación esquemática de las posibles vías de obtención de redes poliméricas expandibles.



*Figura VII: posibles vías de obtención de hidrogeles.*

Dada la gran versatilidad de estos materiales, como las posibilidades de cambiar o modificar sus propiedades macroscópicas a partir del control de su estructura química, es que se han analizado innumerables aplicaciones para los mismos. En los últimos años, han sido diseñados dispositivos para su empleo en campos relacionados a la agricultura, como sistemas para retención de agua y/o nutrientes<sup>34,46-48</sup>, o válvulas reguladores de riego<sup>49</sup>; sistemas quelantes de metales o contaminantes en servicios de remediación ambiental<sup>50,51</sup>, entre otros.

Su uso como componentes para dispositivos en aplicaciones biomédicas es sin duda la mayor implicancia de estos materiales. Entre ellas, se pueden mencionar sistemas de transporte y/o liberación controlada de fármacos o compuestos de interés, sistemas de andamiaje biológico para crecimiento o regeneración tisular, o como sistemas barrera, entre otras<sup>31,35,52-58</sup>.

## Objetivos de Trabajo

Basándonos en estos dos pilares fundamentales, en esta Tesis Doctoral se planteó el objetivo general de obtener materiales poliméricos novedosos con potencial uso en la biomedicina, estudiando diversas metodologías de síntesis o modificación de los mismos. A fin de lograr este propósito, se abordó la obtención de polímeros dendronizados, mediante síntesis total o dendronización de polímeros naturales; y la preparación de redes poliméricas expandibles de diferentes características y con la posibilidad de incorporar moléculas dendríticas en su estructura. Además, se planteó la preparación de materiales nanoscópicos como alternativa viable hacia el desarrollo de sistemas con potenciales aplicaciones en áreas vinculadas a la biomedicina, como por ejemplo en la retención y liberación de moléculas de interés. En este último abordaje, se reunieron de manera sinérgica todos

los aspectos estudiados anteriormente y los más relevantes de este trabajo de Tesis.

En este sentido, los objetivos específicos que se fueron cumpliendo, correspondieron a la evaluación de los procesos sintéticos necesarios para la síntesis tanto de polímeros dendronizados como de redes poliméricas expandibles, a la caracterización de los materiales obtenidos y a la elección de aquellos con mejores propiedades y potenciales utilidades específicas. Luego, la preparación de redes interpenetradas a partir de los sistemas elegidos con el criterio anterior, cumplió otro de los objetivos específicos planteados. Por último, la integración de los conocimientos adquiridos y su extrapolación a sistemas de tamaños nanoscópicos centró los esfuerzos, a fin de cumplimentar el último objetivo proyectado.

## Referencias

- (1) Tomalia, D.; Fréchet, J. M. J. *J. Polym. Sci. Part A Polym. Chem.* **2002**, *40* (16), 2719–2728.
- (2) Flory, P. J. *J. Am. Chem. Soc.* **1941**, *63* (11), 3083–3090.
- (3) Buhleier, E.; Werhner, W.; Vögtle, F. *Synthesis*, **1978**, *1978* (2), 155–158.
- (4) Newkome, G. R.; Yao, Z.; Baker, G. R.; Gupta, V. K. *J. Org. Chem.* **1985**, *50* (11), 2003–2004.
- (5) Tomalia, D.; Baker, H.; Dewald, J.; Hall, M.; Kallos, G.; Martin, S.; Roeck, J.; Ryder, J.; Smith, P. *Polym. J.* **1985**, *17* (1), 117–132.
- (6) Esfand, R.; Tomalia, D. A. *Drug Discov. Today* **2001**, *6* (8), 427–436.
- (7) Hawker, C. J.; Fréchet, J. M. J. *J. Am. Chem. Soc.* **1990**, *112* (21), 7638–7647.
- (8) Yates, C. R.; Hayes, W. *Eur. Polym. J.* **2004**, *40* (7), 1257–1281.
- (9) Teertstra, S. J.; Gauthier, M. *Prog. Polym. Sci.* **2004**, *29* (4), 277–327.
- (10) Tomalia, D. *Soft Matter* **2010**, *6*, 456–474.
- (11) Dykes, G. M. *J. Chem. Technol. Biotechnol.* **2001**, *76* (9), 903–918.
- (12) Grayson, S. M.; Fréchet, J. M. J. *Chem. Rev.* **2001**, *101* (12), 3819–3867.
- (13) Mammen, M.; Choi, Seok-Ki George M. Whitesid, G. M. *Angew. Chem. Int. Ed.* **1998**, *37*, 2754–2794.
- (14) Smith, D. K.; Linder, M. B.; Ikkala, O. *Angew. Chemie Int. Ed.*, **2006**, *45*, 3538–3542.
- (15) Mulder, A.; Huskens, J.; Reinhoudt, D. N. *Org. Biomol. Chem.* **2004**, *2* (23), 3409–3424.
- (16) Pan, H.; Grow, M. E.; Wilson, O.; Daniel, M. C. *Tetrahedron* **2013**, *69* (13), 2799–2806.
- (17) Wu, L.; Zhang, Z. *J. Appl. Polym. Sci.* **2013**, *130* (1), 563–571.

- (18) Farías, E. D.; Paez, J. I.; Strumia, M. C.; Baruzzi, A. M.; Passeggi (Jr.), M. C. G.; Brunetti, V. *Electrochim. Acta* **2014**, *134*, 76–83.
- (19) Merhi, A.; Drouet, S.; Kerisit, N.; Paul-Roth, C. O. *Tetrahedron* **2012**, *68* (38), 7901–7910.
- (20) Calderón, M.; Quadir, M. A.; Sharma, S. K.; Haag, R. *Adv. Mater.* **2010**, *22* (2), 190–218.
- (21) Tschiche, A.; Staedtler, A. M.; Malhotra, S.; Bauer, H.; Böttcher, C.; Sharbati, S.; Calderón, M.; Koch, M.; Zollner, T. M.; Barnard, A.; Smith, D. K.; Einspanier, R.; Schmidt, N.; Haag, R. *J. Mater. Chem. B* **2014**, *2* (15), 2153.
- (22) Zhang, S.; Sun, H.-J.; Hughes, A. D.; Moussodia, R.-O.; Bertin, A.; Chen, Y.; Pochan, D. J.; Heiney, P. a; Klein, M. L.; Percec, V. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* **2014**, *111* (25), 9058–9063.
- (23) Lukowiak, M.; Thota, B. N.; Haag, R. *Biotechnol. Adv.* **2015**.
- (24) Khandare, J.; Calderón, M. *Nanoscale* **2015**, *7* (9), 3806–3807.
- (25) Alvarez Igarzabal, C. I.; Strumia, M. C.; Martinelli, M.; Calderón, M. *React. Funct. Polym.* **2007**, *67*, 1018–1026.
- (26) *Targeted Drug Delivery : Concepts and Design*; Devarajan, P. V., Jain, S., Eds.; Advances in Delivery Science and Technology; Springer International Publishing: Cham, **2015**.
- (27) *Multifunctional Nanoparticles for Drug Delivery Applications*; Svenson, S., Prud'homme, R. K., Eds.; Nanostructure Science and Technology; Springer US: Boston, MA, **2012**.
- (28) Kostianen, M. A.; Hardy, J. G.; Smith, D. K. *Angew. Chemie - Int. Ed.* **2005**, *117*, 2612–2615.
- (29) Malhotra, S.; Bauer, H.; Tschiche, A.; Staedtler, A. M.; Mohr, A.; Calderón, M.; Parmar, V. S.; Hoeke, L.; Sharbati, S.; Einspanier, R.; Haag, R. *Biomacromolecules* **2012**, *13* (10), 3087–3098.
- (30) Ullah, F.; Othman, M. B. H.; Javed, F.; Ahmad, Z.; Akil, H. M. *Mater. Sci. Eng. C* **2015**, *57*, 414–433.
- (31) Hoare, T. R.; Kohane, D. S. *Polymer*, **2008**, *49* (8), 1993–2007.

- (32) Ahmed, E. M. *J. Adv. Res.* **2015**, *6* (2), 105–121.
- (33) Berger, J.; Reist, M.; Mayer, J. M.; Felt, O.; Peppas, N.; Gurny, R. *Eur. J. Pharm. Biopharm.* **2004**, *57* (1), 19–34.
- (34) Rudzinski, W. E.; Dave, A. M.; Vaishnav, U. H.; Kumbar, S. G.; Kulkarni, A. R.; Aminabhavi, T. M. *Des. Monomers Polym.* **2012**, *5* (1), 39–65.
- (35) Studenovská, H.; Šlouf, M.; Rypáček, F. *J. Mater. Sci. Mater. Med.* **2008**, *19* (2), 615–621.
- (36) Tomić, S. L.; Dimitrijević, S. I.; Marinković, A. D.; Najman, S.; Filipović, J. M. *Polym. Bull.* **2009**, *63* (6), 837–851.
- (37) Cuggino, J.; Contreras, C. B.; Jimenez-Kairuz, A.; Maletto, B. A.; Alvarez Igarzabal, C. I. *Mol. Pharm.* **2014**, *11* (7), 2239–2249.
- (38) Karadag, E.; Saraydin, D.; Güven, O. *Macromol. Mater. Eng.* **2001**, *286*, 34–42.
- (39) Rzaev, Z. M. O.; Dinçer, S.; Pişkin, E. *Prog. Polym. Sci.* **2007**, *32* (5), 534–595.
- (40) Yu, Q.; Song, Y.; Shi, X.; Xu, C.; Bin, Y. *Carbohydr. Polym.* **2011**, *84* (1), 465–470.
- (41) Moura, M. J.; Figueiredo, M. M.; Gil, M. H. *Biomacromolecules* **2007**, *8* (12), 3823–3829.
- (42) Rosiak, J. M.; Ulański, P. *Radiat. Phys. Chem.* **1999**, *55* (2), 139–151.
- (43) Wang, L. S.; Lee, F.; Lim, J.; Du, C.; Wan, A. C. a; Lee, S. S.; Kurisawa, M. *Acta Biomater.* **2014**, *10* (6), 2539–2550.
- (44) Chang, Q.; Gao, H.; Bu, S.; Zhong, W.; Lu, F.; Xing, M. *J. Mater. Chem. B* **2015**, *3* (22), 4503–4513.
- (45) Alves Cardoso, D.; Van Den Beucken, J. J. J. P.; Both, L. L. H.; Bender, J.; Jansen, J. a.; Leeuwenburgh, S. C. G. *J. Biomed. Mater. Res. - Part A* **2014**, *102* (3), 808–817.
- (46) Guilherme, M. R.; Aouada, F. A.; Fajardo, A. R.; Martins, A. F.; Paulino, A. T.; Davi, M. F. T.; Rubira, A. F.; Muniz, E. C. *Eur. Polym. J.* **2015**, *72*, 365–385.

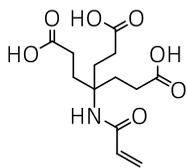
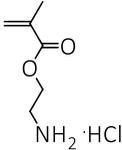
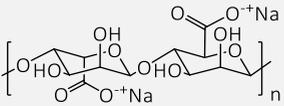
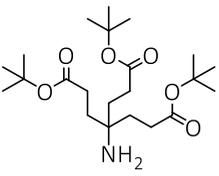
- (47) Demitri, C.; Scalera, F.; Madaghiele, M.; Sannino, A.; Maffezzoli, A. *Int. J. Polym. Sci.* **2013**, *2013*, 1–6.
- (48) Montesano, F. F.; Parente, A.; Santamaria, P.; Sannino, A.; Serio, F. *Agric. Agric. Sci. Procedia* **2015**, *4*, 451–458.
- (49) Romero, M. R.; Arrua, R. D.; Alvarez Igarzabal, C. I.; Hilder, E. F. *Sensors Actuators, B Chem.* **2013**, *188*, 176–184.
- (50) Gao, H.; Sun, Y.; Zhou, J.; Xu, R.; Duan, H. *ACS Appl. Mater. Interfaces* **2013**, *5* (2), 425–432.
- (51) Copello, G. J.; Mebert, A. M.; Raineri, M.; Pesenti, M. P.; Diaz, L. E. *J. Hazard. Mater.* **2011**, *186* (1), 932–939.
- (52) Peppas, N.; Hilt, J. Z.; Khademhosseini, A.; Langer, R. *Adv. Mater.* **2006**, *18* (11), 1345–1360.
- (53) Kalshetti, P. P.; Rajendra, V. B.; Dixit, D. N.; Parekh, P. P. *Int. J. Pharm. Pharm. Sci.* **2012**, *4* (1), 1–7.
- (54) Saul, J. M.; Williams, D. F. *Princ. Regen. Med.* **2011**, 637–661.
- (55) Knipe, J. M.; Peppas, N. *Regen. Biomater.* **2014**, *1* (1), 57–65.
- (56) Fisher, S. a; Tam, R. Y.; Shoichet, M. S. *Tissue Eng. Part A* **2014**, *20* (5-6), 895–898.
- (57) Sharpe, L.; Daily, A. M.; Horava, S. D.; Peppas, N. *Expert Opin. Drug Deliv.* **2014**, *11* (6), 901–915.
- (58) Koetting, M. C.; Peters, J. T.; Steichen, S. D.; Peppas, N. *Mater. Sci. Eng. R Reports* **2015**, *93*, 1–49.



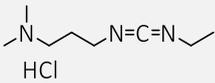
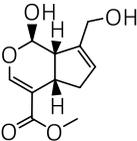
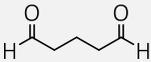
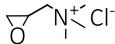
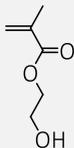
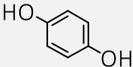
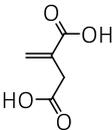
***Materiales y  
Equipamientos Generales***

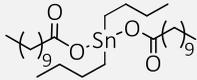
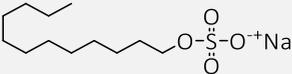
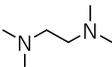
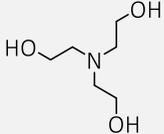
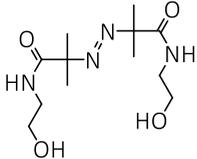
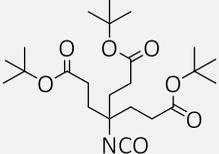
---

## Materiales empleados

| Compuesto  | Estructura  | Origen y pureza                  |
|--|---|----------------------------------|
| AA:<br>Ácido acrílico  |    | 99%, BASF<br>Chemical<br>Company |
| ABC:<br>Ácido 4-acriiloilamino<br>-4-(carboxietil)<br>heptanodioico  |    | sintetizado                      |
| AcCl:<br>Cloruro de acrililo   |    | sintetizado                      |
| AEMA:<br>2-Aminoetil<br>metacrilato<br>clorhidrato   |   | 90%, Sigma<br>Aldrich            |
| Alginato de sodio  |  | Grado analítico,<br>Protanal TM  |
| Aminotriéster:<br>Di- <i>ter</i> -butil 4-amino-<br>4-[(2- <i>ter</i> -<br>butoxicarbonil)etil]<br>1,7-heptanodioato |  | 99,8%, Frontier<br>Scientific    |

|   |  |  |
|---|--|--|
| <p>APS:<br/>Persulfato de amonio</p>                      |  | <p>98%, Sigma<br/>Aldrich</p>  |
| <p>BIS:<br/>N,N'-metilen<br/>bisacrilamida</p>            |  | <p>99%, Sigma<br/>Aldrich</p>  |
| <p>Ch:<br/>Quitosán</p>                                   |  | <p>Grado analítico,<br/>bajo peso<br/>molecular, 85%<br/>desacetilado,<br/>Aldrich</p> |
| <p>cis-Pt:<br/>cis-diamino platino (II)<br/>dicloruro</p> |  | <p>99,9%, Sigma<br/>Aldrich</p>  |
| <p>Cloruro de benzoílo</p>                                |  | <p>97%, Fluka</p>  |
| <p>DAA:<br/>Dihidrazida de ácido<br/>adípico</p>          |  | <p>sintetizado</p>   |
| <p>DAT:<br/>(+)-N,N'-<br/>dialiltartramida</p>            |  | <p>99%, Sigma<br/>Aldrich</p>  |
| <p>Di-isopropiladipato</p>                                |  | <p>96%, Química<br/>Olivos S.A.</p>  |

|  |   |   |
|--|---|---|
| <p>EDC:</p> <p>Clorhidrato de 1-etil-3-(3-dimetilaminopropil) carbodiimida</p> |    | <p>98%, Sigma<br/>Aldrich</p>           |
| <p>Genipina</p>  |    | <p>98%, Wako<br/>Chemicals<br/>Inc.</p> |
| <p>Glutaraldehido</p>  |    | <p>Grado<br/>Analítico,<br/>Anedra</p>  |
| <p>GTMAC:</p> <p>Cloruro de glicidil trimetil amonio</p>                       |    | <p>90%, Sigma<br/>Aldrich</p>           |
| <p>HEMA:</p> <p>2-Hidroxietil metacrilato</p>                                  |   | <p>99%, Sigma<br/>Aldrich</p>           |
| <p>Hidrazina</p>   | <p><math>H_2N-NH_2</math></p>   | <p>64-65%,<br/>Sigma<br/>Aldrich</p>    |
| <p>Hidroquinona</p>  |  | <p>99%, Sigma<br/>Aldrich</p>           |
| <p>IA:</p> <p>Ácido itacónico</p>  |  | <p>99%, Sigma<br/>Aldrich</p>           |

|   |   |                                 |
|---|---|---------------------------------|
| <p>Laurato de dibutil estaño</p>  |    | <p>95%, Sigma Aldrich</p>       |
| <p>NiPAm:<br/>N-isopropil acrilamida</p>  |    | <p>97%, Sigma Aldrich</p>       |
| <p>SDS:<br/>Dodecil sulfato de sodio</p>  |    | <p>98%, Sigma Aldrich</p>       |
| <p>TEMED:<br/>N,N,N',N'-<br/>tetrametilenetilen<br/>diamina</p>   |    | <p>98%, Fluka</p>               |
| <p>TEOHA:<br/>Trietanolamina</p>  |    | <p>99%, Anedra</p>              |
| <p>VA-086:<br/>2,2'-azobis[2-metil-N-(2-<br/>hidroxietil)<br/>propionamida]</p>   |  | <p>98%, Wako Ltd.</p>           |
| <p>Weis:<br/>Di-<i>ter</i>-butil 4-isocianato-<br/>4[(2-<i>ter</i>-butoxi<br/>carbonil)etil]-1,7-<br/>heptanodioato</p> |  | <p>98%, Frontier Scientific</p> |

## Solventes, sales, ácidos y bases

| Compuesto                      | Origen y pureza  |
|--------------------------------|--|
| 2-propanol                     | Grado Analítico, Carlo Erba  |
| Acetona                        | Grado Analítico, Acros Organics/Sintorgan  |
| Ácido fórmico                  | 90%, Acros Organics/ 85%, Anedra   |
| ACN:<br>Acetonitrilo           | Grado Analítico, Sintorgan, conservado sobre tamices moleculares 4Å  |
| DCM:<br>Diclorometano          | Grado HPLC, Acros Organics / Grado Analítico, Sintorgan, destilado y conservado sobre tamices moleculares    |
| DMAc:<br>N,N'-dimetilacetamida | Grado HPLC, J. T. Baker, conservado sobre tamices moleculares 4Å   |
| DMF:<br>N,N'-dimetilformamida  | Grado HPLC, Acros Organics / Grado Analítico, Sintorgan, destilado y conservado sobre tamices moleculares 4Å |
| Etanol                         | Grado Analítico, Sintorgan   |
| Éter etílico                   | Grado Analítico, Acros Organics/Sintorgan  |
| HCl                            | 35-36%, Cicarelli  |

|                                    |   |
|------------------------------------|---|
| $K_2CO_3$                          | Grado Analítico, Acros Organics/Cicarelli                     |
| MeNO <sub>2</sub> :<br>Nitrometano | Sigma Aldrich, 99,8%, conservado sobre tamices moleculares 4Å |
| Metanol                            | Grado Analítico, Acros Organics/Sintorgan                     |
| MgSO <sub>4</sub>                  | Grado Analítico, Acros Organics/Cicarelli                     |
| NaHCO <sub>3</sub>                 | Grado Analítico, Acros Organics/Cicarelli                     |
| Tolueno                            | Grado Analítico, Acros Organics/Cicarelli                     |

## Equipamientos y Metodologías

FT-IR: Espectroscopia Infrarroja con Transformada de Fourier. Los espectros fueron obtenidos en los siguientes equipamientos: Nicolet Avatar 360 con muestras sobre pasillas de KBr; Microscopio de infrarrojo Nicolet iN 10, con muestras sobre pastillas de KBr o sobre espejos de aluminio u oro (Departamento de Química Orgánica, Facultad de Ciencias Químicas, Universidad Nacional de Córdoba); o Nicolet iS10 con muestras sobre ventana de diamante (Instituto de Química y Bioquímica, Freie Universität Berlin).

$^1\text{H}$  y  $^{13}\text{C}$  RMN: Espectroscopia de Resonancia Magnética Nuclear de protones o carbono. Las muestras fueron obtenidas utilizando un equipo Bruker Avance II 400 MHz NMR – Ultra Shield (Departamento de Química Orgánica, Facultad de Ciencias Químicas, Universidad Nacional de Córdoba) o Jeol ECX-400 (Instituto de Química y Bioquímica, Freie Universität Berlin). Para ambos casos, las muestras se realizaron utilizando solventes deuterados ( $\text{D}_2\text{O}$ , DCl,  $\text{CDCl}_3$  o  $\text{DMSO}-d_6$ ).

CP-MAS: Espectroscopia de Resonancia Magnética Nuclear de carbono en fase sólida de alta resolución. Las muestras se tomaron empleando un equipo 7T Bruker Avance II-300 con un cabezal de sólidos de 4 mm de diámetro (Laboratorio Nacional de Investigación y Servicios de Resonancia Magnética en Sólidos, Facultad de Matemática, Astronomía y Física, Universidad Nacional de Córdoba).

DLS: Dispersión de Luz Dinámica, empleada para medir tamaño, polidispersidad y potencial Zeta en nanopartículas, empleando un equipo Malvern Zetasizer con láser de He-Ne ( $\lambda = 633 \text{ nm}$ ) y ángulo de dispersión de  $173^\circ$  (Instituto de Química y Bioquímica, Freie Universität Berlin). Las muestras se prepararon en concentración de  $1 \text{ mg mL}^{-1}$  en soluciones de buffer citrato pH 3,0; buffer fosfato pH 7,4 o buffer fosfato pH 12,0.

DSC: Calorimetría Diferencial de Barrido, realizado utilizando un equipo DSC 2010 Differential Scanning Calorimeter, TA Instruments, utilizando rampas de temperatura de 10°C/min desde 40 a 360°C, empleando cápsulas de aluminio selladas y atmósfera abierta (Departamento de Química, Universidad Nacional de Río Cuarto).

Estudios Reológicos: realizados utilizando un Reómetro Rheoplus Physica MCR 301, Anton Paar. Los experimentos de barrido de amplitud y frecuencia angular se llevaron a cabo a temperaturas constantes de 20°C para geles en equilibrio hidrodinámico en soluciones de buffer citrato pH 3,0; buffer fosfato pH 7,4 o buffer fosfato pH 12,0.

Titulaciones Potenciométricas: realizados empleando un titulador Metrohm 905. (Departamento de Farmacia, Facultad de Ciencias Químicas, Universidad Nacional de Córdoba).

GPC: Cromatografía de Permeación en Gel, realizada utilizando un cromatógrafo Waters 1525 y columnas Ultrahydrogel (Waters, 7.8 mm × 300 mm) con tamaños de poro de 120, 250, 500, 1000 y 2000 Å y límites de fraccionamiento de  $5 \times 10^3$ ,  $8 \times 10^4$ ,  $4 \times 10^5$ ,  $1 \times 10^6$ , y  $7 \times 10^6$  g/mol respectivamente. La detección se realizó mediante un refractómetro diferencial Waters 2414-410 a una temperatura de trabajo de 30°C. (Instituto de Desarrollo Tecnológico para la Industria Química, Universidad Nacional del Litoral).

Determinación de temperaturas de enturbiamiento ( $T_{cp}$ ): realizadas empleando un espectrómetro UV-visible Cary 100 Bio, acoplado a un baño termostatzado (Instituto de Química y Bioquímica, Freie Universität Berlin). Las muestras se prepararon en concentración de 5 mg mL<sup>-1</sup> en soluciones de buffer citrato pH 3,0; buffer acetato pH 5,0 o buffer fosfato pH 7,4. Las mediciones se realizaron a  $\lambda=500$  nm en una celda de 1 cm de paso óptico utilizando rampas de temperatura de 0,5°C/min desde 15 a 85°C. La determinación del punto de inflexión en las curvas de % de transmitancia vs. temperatura dio origen a los valores de  $T_{cp}$ .

Determinaciones de índice de Hinchamiento en masa ( $q_w$ ): se tomaron las masas de los geles analizados en equilibrio hidrodinámico en soluciones de buffer citrato pH 3,0; buffer fosfato pH 7,4 o buffer fosfato pH 12,0 y sus respectivas masas en estado colapsado o seco según el caso. La relación entre la masa del estado hinchado y la masa del estado colapsado o seco dio lugar a los valores de  $q_w$ .



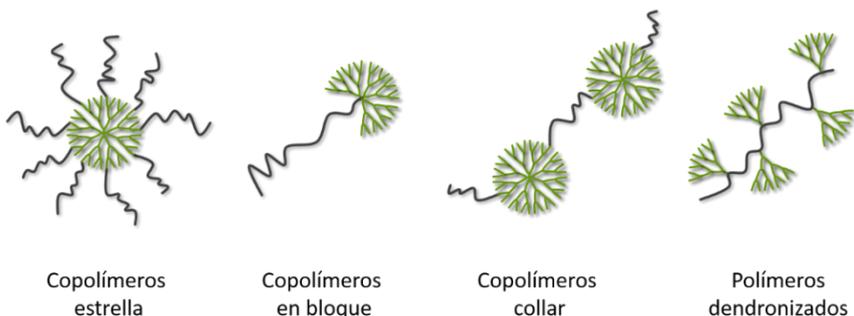
## *Parte 1*

---

# *Polímeros dendronizados. Síntesis y caracterización*

## Antecedentes y Generalidades

En la Introducción General fueron presentados los alcances y las ventajas que poseen las moléculas dendríticas. No obstante, la conocida complejidad y alto costo económico en la síntesis de dendrímeros o dendrones, ha sesgado su uso como materiales de uso común en la química de polímeros. Por otro lado, la necesidad creciente de sistemas poliméricos de alta complejidad y alta especificidad, ha tornado el proceso de funcionalización de polímeros clásicos en un área desafiante para los químicos. Como consecuencia de esto, una de las posibilidades que se adapta de manera asombrosa a este hecho, es la combinación de estructuras dendríticas con polímeros clásicos, dando lugar a los híbridos dendríticos<sup>1</sup>. La Figura I.1, muestra algunas de las posibles arquitecturas macromoleculares logradas.



*Figura I.1: ejemplos de híbridos dendríticos.*

Una de las herramientas utilizadas para combinar estructuras dendríticas con una matriz polimérica es el proceso de dendronización. Esta acción involucra la extensión del concepto dendrítico a todo el polímero, mediante la interacción covalente o supramolecular de dendrones con

otras moléculas dendríticas o no-dendríticas para crear nanoestructuras estables y bien definidas<sup>2,3</sup>. Generalmente, los polímeros dendronizados están formados por un polímero lineal del cual penden grupos reactivos, desde donde pueden unirse dendrones.

La primera aparición de los polímeros dendronizados, primeramente denominados como moléculas dendríticas cilíndricas, fue a fines de la década de 1980. Precisamente, Tomalia y colaboradores iniciaron sus estudios como parte de un proyecto industrial de la Dow Chemical Company en 1987<sup>4</sup>, presentando el detalle de sus resultados a finales de la década de 1990<sup>5,6</sup>. Por otro lado, Hawker y Fréchet presentaron en 1992 la síntesis y caracterización de un polímero dendronizado constituido por estireno y poli(aril éteres) dendríticos<sup>7</sup>.

Las estrategias sintéticas más reconocidas para la obtención de estos materiales involucran tres posibles metodologías<sup>8</sup>. En primer lugar, una aproximación convergente involucra la unión de dendrones preformados a la estructura polimérica lineal ya existente. La estrategia divergente consta de la activación de grupos funcionales en el polímero lineal, desde donde la estructura dendrítica crece paso a paso, a partir de reacciones repetitivas, aumentando la generación del dendrón con sucesivas etapas sintéticas. Por último, la denominada estrategia del macromonómero, supone la polimerización de moléculas dendríticas a las que previamente se les ha unido un grupo polimerizable en su punto focal. La Figura I.II resume las posibles vías de obtención para polímeros dendronizados.

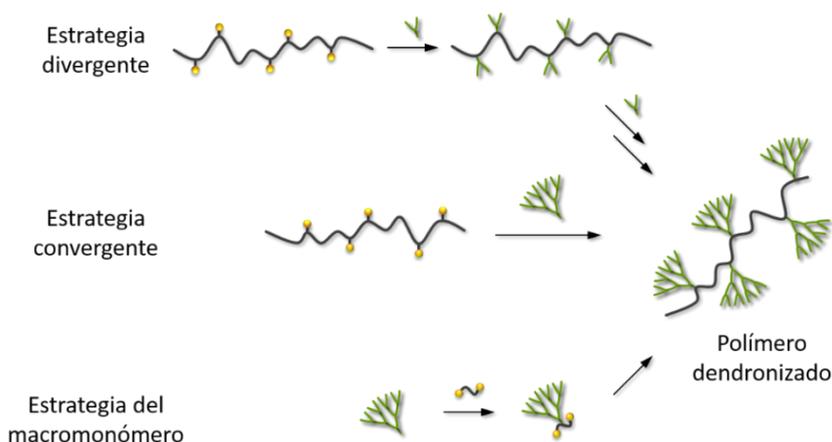


Figura I.II: vías de obtención para polímeros dendronizados.

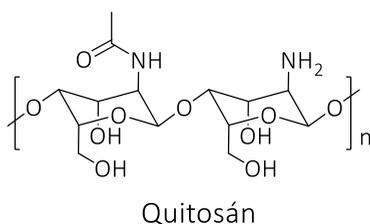
Dadas las diversas metodologías sintéticas para las obtención de polímeros dendronizados, puede considerarse que la estrategia divergente es la más propensa a sufrir defectos conformacionales, originando ramificaciones imperfectas en los dendrones crecientes<sup>2,9</sup>. Por otro lado, bajos porcentajes de dendronización en la vía convergente, pueden surgir como consecuencia de un elevado impedimento estérico para dendrones de alta generación. Si bien la estrategia del macromonomero es la única que origina un polímero con 100% de dendronización, en este caso es el impedimento estérico quien juega un papel importante en el tamaño o peso molecular del polímero formado, resultando este generalmente bajo<sup>10,11</sup>.

A continuación, se desarrollan algunos conceptos fundamentales que sirvieron de base para la elaboración de esta parte de la Tesis Doctoral, como son las características y propiedades, tanto del quitosán como de las moléculas dendríticas del tipo Newkome.

En primera instancia, se puede destacar que la quitina es uno de los biopolímeros más importantes a nivel mundial, junto con la celulosa, dada

su amplia distribución, abundancia y fácil accesibilidad. La quitina se encuentra principalmente como componente natural del exoesqueleto de los artrópodos, encontrándose también en otros organismos como levaduras, hongos o plantas inferiores<sup>12,13</sup>.

El principal derivado de la quitina es el quitosán (Ch), obtenido por la desacetilación total o parcial de la misma. Este polisacárido está compuesto por unidades repetitivas de D-glucosamina y D-acetilglucosamina. Al poseer grupos amino libres, este polímero es capaz de presentar carga parcial positiva, lo que le otorga características físico-químicas y biológicas peculiares. La Figura I.III muestra la estructura química de Ch parcialmente desacetilado.



*Figura I.III: estructura química de Ch.*

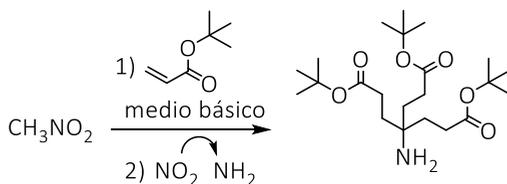
Desde hace varias décadas, Ch y sus derivados han recibido mucha atención por parte de los científicos, ya que ha sido empleado para uso biomédico gracias a su biocompatibilidad, biodegradabilidad y no toxicidad<sup>14,15</sup>. Sin embargo, su escasa densidad de carga a valores de pH neutro o básico, disminuye abruptamente su solubilidad en agua, ocasionando el agregado del polímero y reduciendo la estabilidad de aquellas formulaciones basadas en Ch<sup>16,17</sup>.

A fin de salvar las desventajas del Ch en su estado nativo, diferentes vías de modificación han sido propuestas, teniendo en cuenta que cada anillo

piranósico exhibe tres sitios aptos para modificar: un grupo amino y dos grupos hidroxilo, uno primario y otro secundario.

Gran variedad de reacciones han sido planteadas, principalmente para mejorar la solubilidad de Ch. A modo de ejemplo, se puede mencionar que la formación o unión de una sal de amonio cuaternario, o la unión de cadenas de poli(etilenglicol), estrategia conocida como pegilación, han sido empleadas como las principales vías para favorecer su solubilidad en agua<sup>18-20</sup>. La formación de la correspondiente ftalimida aporta mayor hidrofobicidad, resultando un producto soluble en solventes orgánicos clásicos y apto para realizar reacciones en este tipo de medios<sup>13,21-25</sup>.

Por su parte, Aminotriéster o Amina de Behera (Di-*ter*-butil 4-amino-4-[2-(*ter*-butoxicarbonil)etil]-heptanodioato) es un dendrón de primera generación, o bloque constructivo, de fácil manejo y comercialmente disponible. Es un sólido cristalino, soluble en la mayoría de los solventes orgánicos clásicos, como acetona, diclorometano, dimetilformamida, entre otros. La síntesis de esta molécula fue presentada por George Newkome y colaboradores en 1991<sup>26</sup>, siendo uno de las estructuras base de los dendrones del tipo Newkome. La reacción entre nitrometano y *ter*-butil acrilato en medio básico, y la posterior reducción del grupo nitro al amino correspondiente, comprende la base para la obtención de Aminotriéster, tal como se muestra en el Esquema I.I.

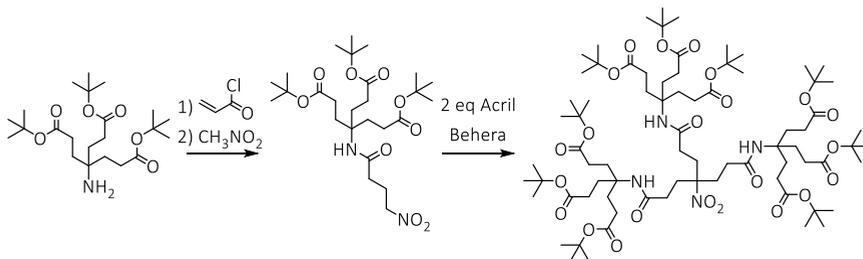


Esquema I.I: síntesis de Aminotriéster propuesta por Newkome.

La presencia del grupo amino como punto focal y los grupos éster en la periferia, posicionan a esta molécula dendrítica como candidato interesante para plantear modificaciones sobre su estructura. Las siguientes, son algunas de las reacciones típicas que emplean este bloque constructor como base y que fueron tenidas en cuenta para la realización de este trabajo.

La síntesis del derivado vinílico (*Acril Behera*) fue propuesta por el mismo Newkome, y realizada con relativa facilidad mediante el empleo de cloruro de acrililo en un medio orgánico en presencia de trietilamina<sup>27</sup>. Análogamente, el derivado con un grupo isocianato como punto focal, denominado Weisocianato, o simplemente Weis, en honor a su creador Claus Weis, fue logrado mediante el tratamiento de Aminotriéster con trifosgeno, para dar el isocianato cristalino y químicamente estable en condiciones de laboratorio<sup>28</sup>.

Otro ejemplo de su uso como bloque constructivo, es la obtención del dendrón de segunda generación<sup>27</sup>. Partiendo de un derivado nitrado de Amina de Behera, la sustitución de los protones ácidos ubicados en posición  $\alpha$  al grupo nitro, se realizó con dos equivalentes de Acril Behera. La reducción catalítica del grupo nitro da origen al dendrón de segunda generación, como se muestra en el Esquema I.II.



*Esquema I.II: síntesis de dendrón de tipo Newkome de segunda generación.*

Para cumplir con el objetivo de obtener polímeros dendronizados, en esta parte de la Tesis es que se plantearon dos alternativas diferentes de trabajo. Por un lado, se buscó la modificación de Ch con moléculas dendríticas por una metodología convergente, para obtener el respectivo biopolímero modificado. Por otro lado, se planteó la síntesis de un monómero dendrítico basado en Aminotriéster, para luego obtener el correspondiente polímero dendronizado mediante la polimerización radicalaria del mismo.

Cabe destacar, que para la sección del trabajo desarrollado a continuación, el empleo de un biopolímero como Ch permitió, además, realizar una aproximación a los conceptos de Química Sustentable o Química Verde, lo que dio lugar al desarrollo de metodologías alternativas para la obtención de derivados de Ch con alto valor agregado.

En este sentido, la Química Verde basa sus principios en la maximización de incorporación de todos los materiales utilizados en un procedimiento dentro del producto final, la minimización en la generación de residuos, el uso de materiales y condiciones menos perjudiciales para la salud humana y el medio ambiente, como así también el empleo de materias primas renovables y no extinguidas<sup>29</sup>.



## ***Capítulo 1***

---

### ***Sistemas basados en biopolímeros. Dendronización y modificación de quitosán***

## Planteo Experimental

En este Capítulo se planteó la modificación química de Ch con moléculas dendríticas del tipo Newkome, particularmente Weis. El objetivo central fue promover el acoplamiento del dendrón mediante el ataque a su punto focal  $-N=C=O$  por parte de los grupos nucleofílicos  $-NH_2$  u  $-OH$  de Ch. Si bien la modificación fue posible, se empleó el producto de dendronización como base para dos tipos de modificaciones subsecuentes, a fin de aportar mayor hidrofiliidad al producto final. Por un lado, se modificó la identidad de los grupos periféricos del dendrón, pasando de grupos éster *ter*-butílicos a ácido carboxílico. La otra modificación consistió en el acople de una sal de amonio cuaternario, conservando la hidrofobicidad propia de Weis.

## Métodos

### Síntesis de quitosán dendronizado (*Ch-Weis*)

Relaciones molares de Ch:Weis 1:1, 2:1 y 3,5:1 fueron evaluadas a fin de optimizar los parámetros sintéticos. Los productos obtenidos en cada caso se denominaron Ch-Weis 1, Ch-Weis 2 y Ch-Weis 3,5, respectivamente, según muestra la Tabla 1.1 en la sección de Resultados y Discusión.

Para la totalidad de los casos, el procedimiento experimental fue el mismo, tal como se detalla a continuación. En un sistema para reflujo previamente, se dispersó Ch en el solvente de trabajo (DMAc, MeNO<sub>2</sub>, ACN o DMF). Luego, una solución de Weis y laurato de dibutil estaño como catalizador (2 mol % en relación a Weis) realizada en el mismo solvente de trabajo, se añadió al equipo de reacción mediante goteo con

una jeringa. El sistema se mantuvo a 85°C por 8 horas, bajo atmosfera de nitrógeno y con agitación vigorosa. Luego del tiempo de reacción, la mezcla se filtró y se lavó con acetona. El producto se secó a 40°C hasta peso constante, obteniéndose en todos los casos, un particulado de color pardo claro.

### Estimación del grado de dendronización (%D)

La técnica se basó en la titulación potenciométrica por retroceso de los grupos amino libres del Ch en cada muestra y de Ch nativo sin modificar.

Para todos los experimentos, 50 mg de muestra se dispersaron en 10 mL de una solución de HCl 0,05M y se agitaron a temperatura ambiente por 48 horas. La solución resultante se tituló con NaOH 0,05M, utilizando un electrodo de calomel saturado como electrodo de referencia. La relación entre grupos amino libres antes y después del proceso de dendronización brindó la información correspondiente al grado de dendronización de la muestra.

### Síntesis de Ch-Weis hidrolizado (Ch-WeisCOOH)

Un total de 200 mg ( $9,07 \times 10^{-4}$  mol) de Ch-Weis 3,5 previamente sintetizado se disolvieron en 15 mL (0,33 mol) de ácido fórmico. El sistema de reacción se dejó 48 horas a 45°C con agitación vigorosa.

El exceso de ácido fórmico y el producto secundario de la reacción se eliminaron mediante vacío. Para eliminar la totalidad de ácido fórmico, se emplearon tres alícuotas de 5 mL de tolueno, a fin de lograr el azeótropo correspondiente y facilitar su eliminación mediante vacío.

El producto final se obtuvo en forma de film, el cual se congeló con aire líquido y luego se mortereó hasta obtener un polvo fino de color pardo. (Rendimiento cuantitativo)

### Síntesis de Ch-Weis cuaternarizado (Ch-Weis-GTMAC)

Un total de 155 mg ( $7,03 \times 10^{-4}$  mol) de Ch-Weis 3,5 previamente sintetizado se dispersaron en 4 mL de una mezcla H<sub>2</sub>O:DMF (10:3) empleando un equipo para reflujo. El sistema se llevó a 85°C y se adicionaron 900 µL ( $6,03 \times 10^{-3}$  mol) de GTMAC, en tres alícuotas de 300 µL, cada intervalos de 2 horas. Se dejó la reacción por un total de 7 horas, desde el primer agregado de GTMAC, a 85°C y agitación vigorosa.

Transcurrido dicho periodo, el crudo de reacción, de apariencia viscosa y color amarillento, se precipitó en 10 mL de acetona fría y se llevó a -4°C por una noche. La muestra se centrifugó y el sólido recuperado se redisolvió en 1 mL de H<sub>2</sub>O. La solución se precipitó nuevamente en una solución acetona:etanol (4:1) y se centrifugó para recuperar el sólido. El proceso de redisolución en H<sub>2</sub>O y precipitación en acetona:etanol se repitió tres veces. Finalmente, el producto de síntesis se disolvió en 2 mL de H<sub>2</sub>O, liofilizó y luego se mortereó hasta obtener un particulado fino de color blanquecino. (Rendimiento: 88%)

## Resultados y Discusión

### Quitosán dendronizado (Ch-Weis)

El procedimiento experimental se diseñó con el objetivo de modificar químicamente parte de los grupos funcionales presentes en Ch con dendrones del tipo Newkome, empleando laurato de dibutil estaño como catalizador<sup>30-32</sup>. Si bien la reacción entre grupos isocianato y amino u hidroxilo es bien conocida y llevada a cabo en trabajos anteriores en el grupo de investigación<sup>33,34</sup>, se modificaron ciertos parámetros sintéticos, como relación molar entre polímero y dendrón, y cantidad e identidad de solvente de trabajo, con el objetivo de mejorar las condiciones de la reacción.

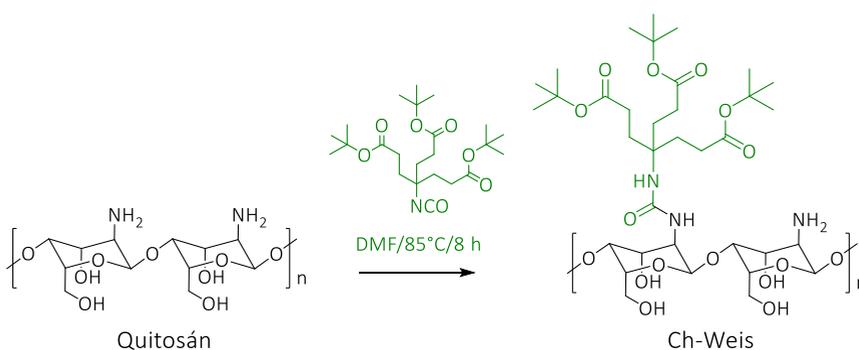
La optimización del método de síntesis y recuperación de los diversos productos Ch-Weis sintetizados involucró el empleo de conceptos de la denominada “química verde”<sup>29,35</sup>. En este sentido, se evaluaron los aspectos mencionados en el párrafo anterior a fin de minimizar los subproductos residuales generados y evitar o minimizar impactos negativos en el medio ambiente. Conocido esto, se planteó el cambio del solvente de reacción, en el solvente de lavado y en la relación molar entre reactivos, a fin de obtener buenos resultados ambientalmente amigables.

En una primera instancia, se evaluaron como solventes de trabajo DMAc, MeNO<sub>2</sub>, ACN y DMF, todos debidamente destilados y secos. El procedimiento fue similar en todos los casos, empleando la relación molar 1:1 entre Ch y Weis y condiciones de reacción de 85°C por 8 horas, tal como se detalló en la sección experimental.

Los productos obtenidos fueron analizados mediante técnicas espectroscópicas, mostrando que sólo para DMAc y DMF se logró el acoplamiento del dendrón al polímero. En base a estos resultados y considerando la similitud en las propiedades de ambos solventes, se

seleccionó DMF como solvente de trabajo por su accesibilidad y menor coste frente a DMAc.

Empleando las condiciones sintéticas seleccionadas con anterioridad (DMF, 85°C, 8h), se realizó la modificación en las relación molar entre reactivos y cantidad de solvente de reacción empleada, a fin de minimizar los residuos y beneficiar parámetros relacionados a la química verde. La reacción química que tiene lugar se muestra en el Esquema 1.1.



*Esquema 1.1: condiciones de síntesis para la obtención de Ch-Weis.*

De esta manera, se llevaron a cabo las reacciones necesarias para obtener los productos Ch-Weis 1, Ch-Weis 2 y Ch-Weis 3,5 tal como se detalla en la Tabla 1.1. Para cada muestra, se calculó el rendimiento porcentual (%R), teniendo en cuenta los moles de Ch empleados y los moles de producto recuperado.

*Tabla 1.1: condiciones de síntesis para la obtención de Ch-Weis.*

| Muestra     | Reactantes           |           |                       | Relación molar [Ch:Weis] | %R <sup>c</sup> |
|-------------|----------------------|-----------|-----------------------|--------------------------|-----------------|
|             | Ch (mg) <sup>a</sup> | Weis (mg) | DMF (mL) <sup>b</sup> |                          |                 |
| Ch-Weis 1   | 200                  | 527       | 7 [35]                | 1:1                      | 88              |
| Ch-Weis 2   | 200                  | 265       | 5 [25]                | 2:1                      | 93              |
| Ch-Weis 3,5 | 500                  | 370       | 10 [20]               | 3,5:1                    | 75              |

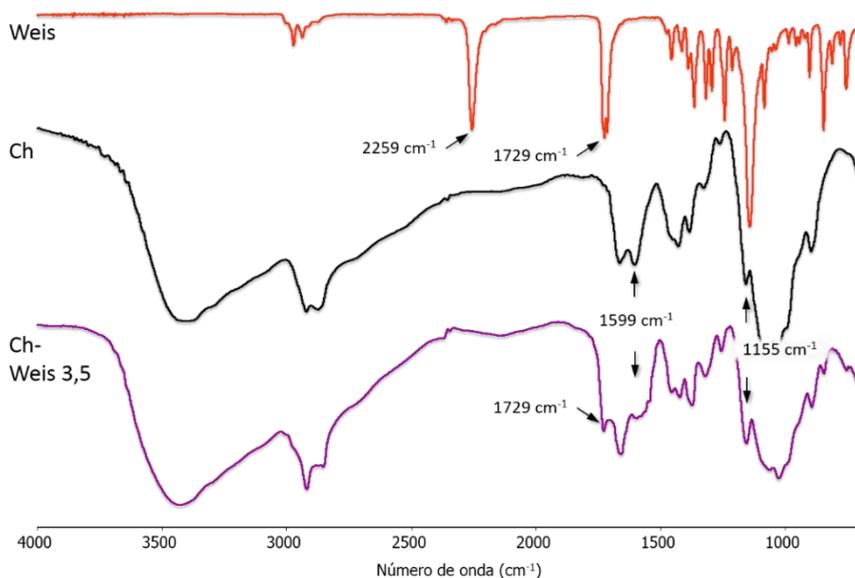
<sup>a</sup> PM de Ch fue calculado usando la siguiente estimación considerando el 85% de desacetilación calculado por <sup>1</sup>H-RMN: [85%(PM<sub>D</sub>-glucosamina)] + [15%(PM<sub>D</sub>-acetil glucosamina)].

<sup>b</sup> Los valores entre corchetes [ ] muestran la cantidad de solvente (mL) por gramo de Ch.

<sup>c</sup> El PM de cada producto fue estimado utilizando la siguiente ecuación: [15%(PM<sub>D</sub>-acetil glucosamina)] + [D%(PM<sub>D</sub>-glucosamina dendronizada)] + [(85% - %D)(PM<sub>D</sub>-glucosamina)].

Tal como puede observarse en los resultados presentados en la Tabla 1.1, se lograron buenos porcentajes de recuperación en todas las reacciones evaluadas en este punto.

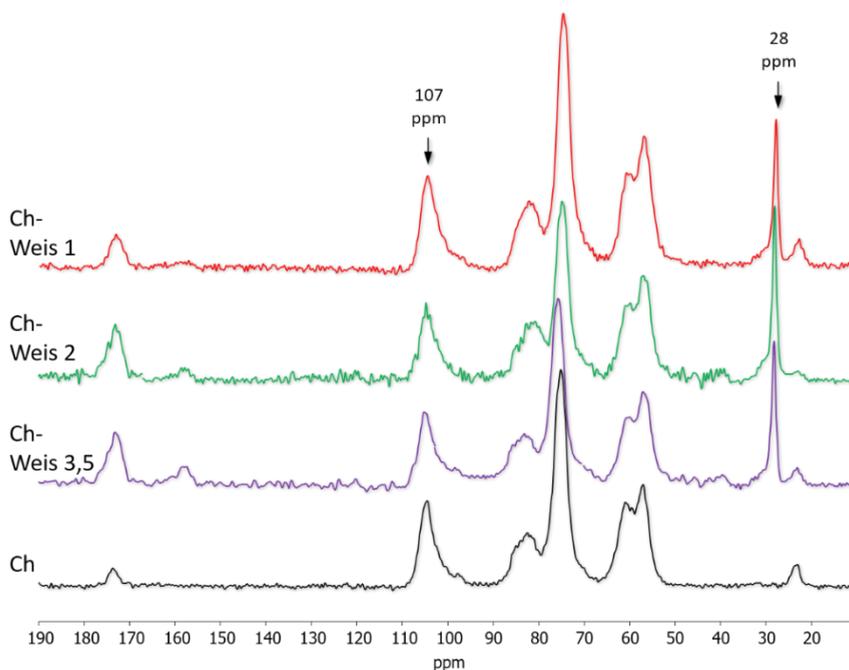
Para confirmar la obtención de cada uno de los productos fue usada la espectroscopia FT-IR. La Figura 1.1 muestra los espectros FT-IR de Weis, Ch, y Ch-Weis 3,5 como representativo de los productos de dendronización, dada la similitud en los espectros de los productos obtenidos.



*Figura 1.1: espectros FT-IR de los reactivos empleados y el producto Ch-Weis 3,5.*

Tal como puede observarse en el espectro del producto dendronizado, la aparición de una nueva banda a  $1729\text{ cm}^{-1}$ , atribuida al estiramiento del enlace  $\text{C}=\text{O}$  del grupo carbonilo de los ésteres dendríticos y/o del grupo urea formado. Esta dicotomía se debe a la superposición de señales en la zona analizada. Se observó también que la intensidad de la señal de deformación de los grupos amino libres a  $1599\text{ cm}^{-1}$  presentó una disminución relativa en el espectro de Ch-Weis 3,5, mientras que la señal de los grupos hidroxilo a  $1159\text{ cm}^{-1}$  prácticamente no presentó cambios, demostrando que la unión del dendrón se lleva a cabo mayoritariamente por los grupos amino libres de  $\text{Ch}^{19}$ . La ausencia de las señales características del dendrón libre o sin reaccionar en el producto final corroboró la efectividad del proceso de purificación empleado.

Dado que estos productos resultaron poco solubles en soluciones acuosas o solventes orgánicos clásicos como acetona, DMF, DCM, cloroformo o metanol, se utilizó espectrometría de resonancia magnética nuclear de  $^{13}\text{C}$  en fase sólida para confirmar los análisis de FT-IR. Los espectros se tomaron empleando la secuencia de pulsos denominada CP-MAS<sup>36</sup>. La Figura 1.2 muestra los espectros CP-MAS- $^{13}\text{C}$  obtenidos para Ch, Ch-Weis 1, Ch-Weis 2 y Ch-Weis 3,5.



*Figura 1.2: espectros CP-MAS- $^{13}\text{C}$  de Ch y de las muestras obtenidas en diferentes condiciones sintéticas.*

Dadas las características de la técnica, estos espectros son semicuantitativos, por lo que no fue posible realizar cálculos a partir de las áreas de integración de las señales en el espectro. Sin embargo, fue posible comparar la intensidad relativa entre el pico a 28 ppm,

correspondiente a los átomos de carbono de los grupos metilo de los *ter*-butilo del dendrón, con respecto a los picos entre 100 y 110 ppm del carbono anomérico del anillo glucopiranosico de Ch, observándose esta relación como indicio de %D.

El estudio semicuantitativo dado por la técnica CP-MAS-<sup>13</sup>C se complementó con los análisis de las titulaciones potenciométricas de los grupos amino libre de la matriz polimérica, antes y después de la modificación con dendrones. Los resultados de esta técnica analítica se muestran en la Tabla 1.2.

*Tabla 1.2: %D determinados para las muestras Ch-Weis sintetizadas.*

| Muestra     | %D           |
|-------------|--------------|
| Ch-Weis 1   | (11,2 ± 0,3) |
| Ch-Weis 2   | (19,9 ± 0,5) |
| Ch-Weis 3,5 | (11,8 ± 0,3) |

Tanto el análisis por CP-MAS-<sup>13</sup>C como los valores de las titulaciones condujeron a la misma conclusión, mostrando la misma tendencia y demostrando una dendronización efectiva. De acuerdo a esto, pudo verificarse que Ch-Weis 2 presentó el mayor %D, en comparación a Ch-Weis 1 y Ch-Weis 3,5.

Si bien el producto Ch-Weis 3,5 no es el que mayor %D presentó, fue el proceso sintético más eficiente, empleando la menor cantidad de solvente por gramo de Ch y con la menor concentración relativa de Weis.

Es importante destacar que este tipo de reacciones, llevadas a cabo en fase heterogénea, en donde la difusión del dendrón hacia el interior del polímero puede depender de las concentraciones de Ch como de Weis, tienen como resultado una baja predictibilidad en el grado de modificación alcanzado. A pesar de ello, los resultados obtenidos en todos

los casos representaron una importante mejora en las condiciones de reacción, dando porcentajes de modificación que fueron mejores respecto a otros obtenidos previamente en el grupo de investigación, y que oscilaron entre el 0,4 a 3,0%<sup>33</sup>.

En este caso, además de haberse mejorado ciertos parámetros sintéticos, se realizó un cambio en el proceso de recuperación y purificación de la muestra. En este sentido, se lograron condiciones más amigables con el medio ambiente utilizando acetona como solvente de lavado en lugar de cloroformo, como era usual en este tipo de procesos anteriormente reportados<sup>33</sup>.

## Métricas relacionadas a la Química Sustentable

Estos cambios y mejoras obtenidas dieron lugar a la evaluación y comparación de los procesos sintéticos, enfocándonos en los principios de la química sustentable o química verde<sup>35</sup>. Para esto, se realizaron los cálculos correspondientes a diversos parámetros o métricas empleadas en esta rama de la química (denominadas *Green Metrics*), siguiendo el trabajo de Ribeiro y colaboradores<sup>29</sup>. Las métricas empleadas se resumen a continuación. Considerando la reacción general entre los reactivos A y B para dar el producto P,  $m_A$ ,  $m_B$  y  $m_P$  son las masas utilizadas de los reactivos y de producto, respectivamente, y  $m_{aux}$  la masa de agentes auxiliares tales como solventes y/o catalizadores.  $PM_A$ ,  $PM_B$  y  $PM_P$  representan los correspondientes pesos molares.

*Factor-E*: relación entre la masa total de desechos y la masa de producto obtenido.

$$E = (m_A + m_B + m_{aux} - m_P)/m_P$$

*Intensidad de Masa (MI)*: relación porcentual entre la masa total de reactantes y la masa de producto obtenido.

$$MI = (m_A + m_B + m_{aux})/m_P$$

*Utilización de Átomos (AU)*: porcentaje de masa de producto obtenido en relación a la masa de todas las sustancias producidas en la reacción química.

$$AU = 100(m_P/(m_A + m_B))$$

*Economía de Átomo (AE)*: porcentaje de la masa de átomos provenientes de los reactantes que han sido incorporados en el producto ( $PM_P$ ), en relación con la masa total de los átomos presentes en los reactivos ( $PM_A + PM_B$ ). Se considera que no hay pérdida de producto y que los reactantes se convierten en productos o subproductos.

$$AE = 100(MW_P/(MW_A + MW_B))$$

Para los cálculos presentados anteriormente, Ch, Weis, laurato de dibutil estaño y DMF se consideraron como reactantes y auxiliares, mientras que Ch-Weis se consideró como producto.

Para Ch-Weis 1, Ch-Weis 2 y Ch-Weis 3,5, los pesos molares se estimaron teniendo en cuenta el %D y el porcentaje de desacetilación original del Ch. La Tabla 1.3 muestra los resultados obtenidos.

*Tabla 1.3: Green Metrics obtenidas en la síntesis de las diferentes muestras de Ch-Weis.*

| Muestra     | Factor E | MI    | AU (%) | AE (%) |
|-------------|----------|-------|--------|--------|
| Ch-Weis 1   | 83,25    | 84,25 | 31,33  | 31,42  |
| Ch-Weis 2   | 58,95    | 59,95 | 61,16  | 61,22  |
| Ch-Weis 3,5 | 67,94    | 68,94 | 56,77  | 56,61  |

El valor del *Factor-E* y de *MI* permitieron evaluar la masa de desechos originados, lo cual es indicativo de las condiciones de química verde. Los resultados mostraron que Ch-Weis 2 fue el producto más amigable, teniendo menor *Factor-E* y mayor *AU* y *AE*, en comparación a los otros productos analizados. Este resultado acuerda con el mayor *%D* que se determinó para este producto. A pesar de ello, Ch-Weis 3,5 fue utilizado en las reacciones subsecuentes, dado que posee valores de *AU* y *AE* aceptables, y por su menor *%D*, lo que supone que posee más grupos amino libres para reaccionar en pasos posteriores.

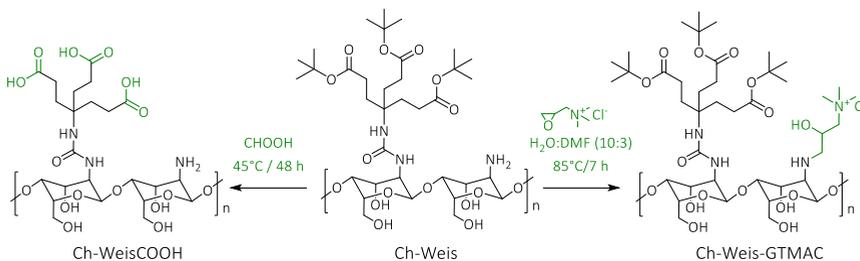
Es importante también destacar que, aunque no fue comparado por las *Green Metrics*, en todos los experimentos se empleó acetona como solvente de lavado en lugar de cloroformo, como indican trabajos anteriores<sup>33,34</sup>. Así, se obtuvieron excelentes resultados en la remoción de los excedentes de Weis y del catalizador, y se minimizaron los efectos del uso de solventes clorados.

La evidencia mostrada en este punto demostró la eficacia de la reacción de dendronización sobre el biopolímero utilizado, lográndose buenos porcentajes de modificación. El grupo focal isocianato del dendrón puede reaccionar tanto con los grupos amino o hidroxilo de Ch, formando uniones del tipo urea o uretano, respectivamente. Sin embargo, el análisis de FT-IR, demuestra la mayor reactividad del grupo amino frente al

hidroxilo, consistente también a lo encontrado en referencias bibliográficas<sup>34,37</sup>, por lo que la suposición de modificación selectiva es válida y aplicable en este caso.

### Ch-Weis hidrolizado (*Ch-WeisCOOH*) y Ch-Weis cuaternarizado (*Ch-Weis-GTMAC*)

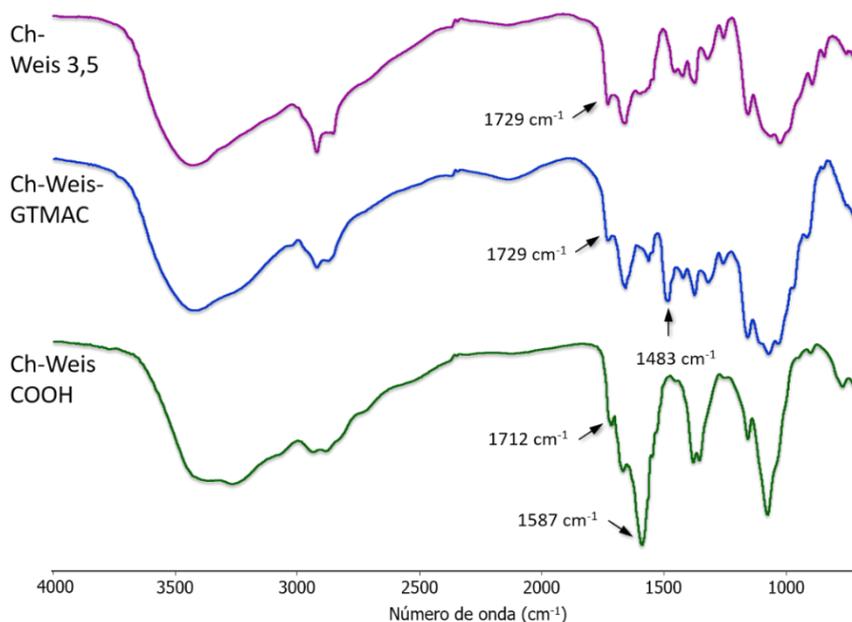
En este punto, Ch dendronizado posee una gran hidrofobicidad, dada principalmente por la presencia de una gran cantidad de grupos *ter*-butilo en la periferia del dendrón. Considerando esto, se propuso aumentar la hidrofiliicidad empleando dos metodologías paralelas: hidrólisis de los ésteres *ter*-butilo del dendrón para obtener grupos ácido en la periferia del dendrón incorporado, o incorporación de GTMAC a partir de los grupos amino libres de Ch, tal como muestra el Esquema 1.2.



Esquema 1.2: síntesis de *Ch-WeisCOOH* y *Ch-Weis-GTMAC*.

El producto hidrolizado (*Ch-WeisCOOH*) y el producto cuaternarizado (*Ch-Weis-GTMAC*) fueron caracterizados por FT-IR, <sup>1</sup>H-RMN y DSC.

La Figura 1.3 muestra los espectros FT-IR de *Ch-Weis* 3,5, *Ch-Weis-GTMAC* y *Ch-WeisCOOH*.



*Figura 1.3: espectros FT-IR de los productos de síntesis obtenidos luego de la modificación de Ch-Weis 3,5.*

Luego de la cuaternarización con GTMAC, la señal a  $1729\text{ cm}^{-1}$  correspondiente al enlace C=O de los grupos carbonilo del dendrón no sufrieron cambio aparente, demostrando la estabilidad del producto dendronizado frente a las condiciones de reacción. En este espectro, se observó la aparición de una nueva señal a  $1483\text{ cm}^{-1}$ , la cual se asignó a la deformación del enlace C-H de los grupos metilo del amonio cuaternario. Además, la banda distintiva de deformación del enlace N-H de los grupos amino de Ch a  $1599\text{ cm}^{-1}$  desapareció luego de la reacción, evidenciando la modificación con GTMAC. Estos resultados coincidieron con lo reportado por Lou y colaboradores<sup>19</sup> en cuanto a la cuaternarización de Ch nativo.

Para el espectro de Ch-WeisCOOH, la señal correspondiente al estiramiento del enlace C=O del grupo carbonilo, presentó un desplazamiento a números de onda menores (de 1729 a 1712  $\text{cm}^{-1}$ ), en total concordancia con la aparición de grupos ácido como resultado de la hidrólisis de los grupos éster *ter*-butilo del dendrón. Asimismo, la señal a 1597  $\text{cm}^{-1}$  fue asignada al estiramiento asimétrico de los enlaces  $\text{O-C=O}$  de los grupos carboxilato presentes en el dendrón. Los cambios observados entre 1300 y 1000  $\text{cm}^{-1}$  se atribuyeron a las vibraciones acopladas de los grupos C-(CO) y O-C-C del dendrón.

Las Figuras 1.4 y 1.5 corresponden a los espectros de  $^1\text{H}$ -RMN de Ch-Weis-GTMAC y ChWeisCOOH, respectivamente.

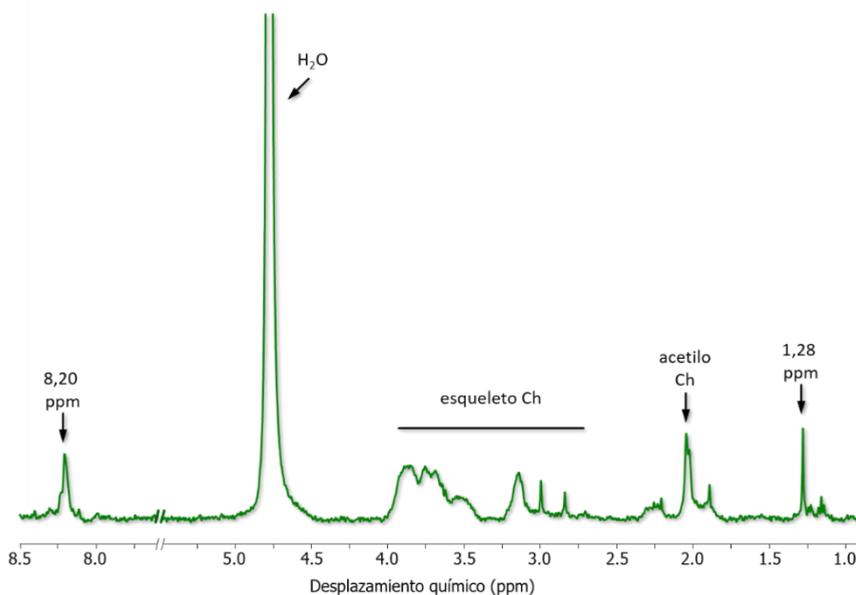


Figura 1.4: espectro de  $^1\text{H}$ -RMN de ChWeisCOOH.

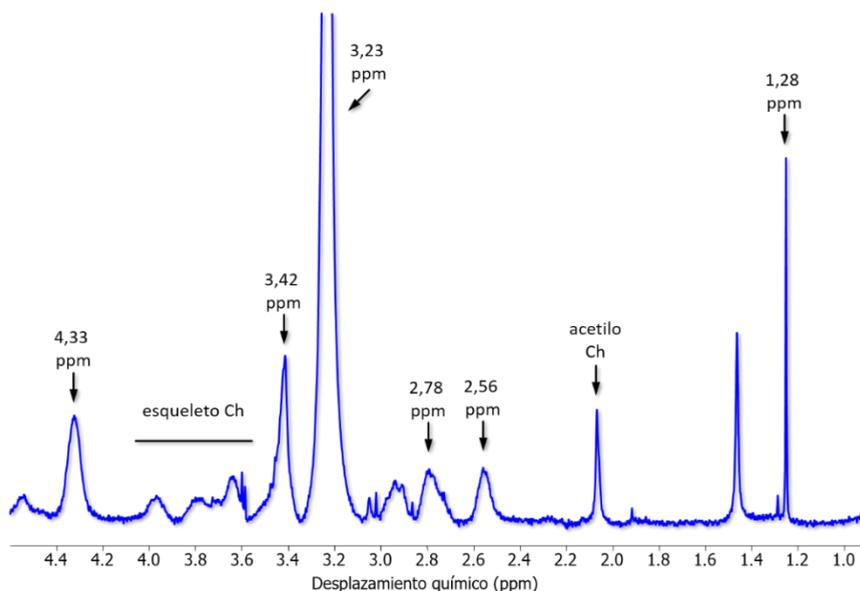


Figura 1.5: espectro de  $^1\text{H}$ -RMN de Ch-Weis-GTMAC.

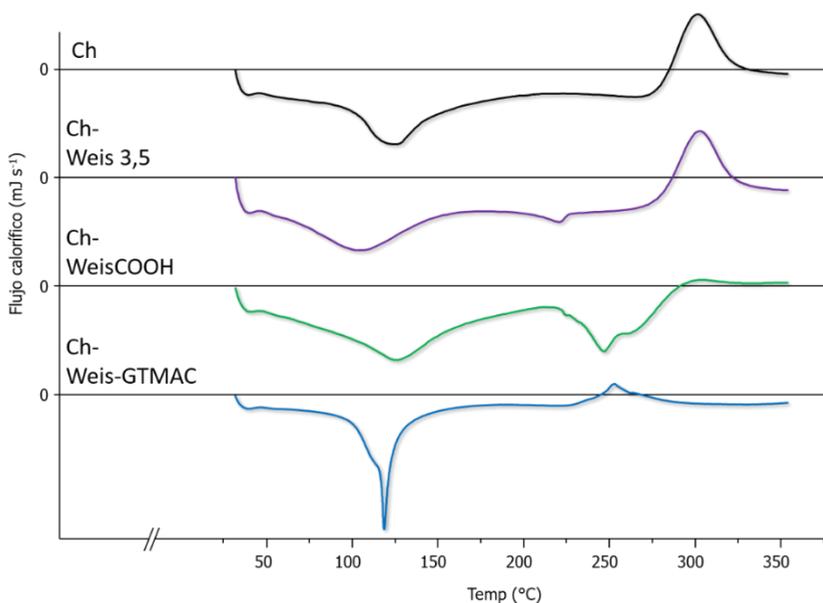
En ambos espectros se pudo apreciar las señales características del esqueleto polimérico de Ch entre 2,00 y 5,00 ppm<sup>38</sup>. En el espectro del producto hidrolizado, la presencia de una nueva señal a 8,20 ppm se atribuyó a los protones ácidos del dendrón. Se observó también una pequeña señal a 1,28 ppm, asignada a los protones metílicos de los grupos *ter*-butilo, debido a una hidrólisis incompleta o a posibles restos de *ter*-butano<sup>37,38</sup>.

En el espectro de Ch-Weis-GTMAC, se observan las señales características de Ch mencionadas con anterioridad, a la vez que se evidenció la aparición de una señal de gran intensidad a 3,23 ppm la que se asignó a los protones de los grupos metilo de la sal de amonio cuaternaria, mientras que las señales a 2,56, 2,78 y 3,42 ppm se asignaron a los protones de los grupos metileno internos, y la señal a 4,33 ppm se atribuyó al protón  $\alpha$  al grupo hidroxilo de GTMAC. La señal a 1,28 ppm

corresponde a los protones de los grupos *ter*-butilo, lo que demostró la presencia del mismo y la estabilidad de los ésteres en la estructura polimérica<sup>19,37,38</sup>.

En este punto, la evidencia espectroscópica presentada mostró la efectividad de las reacciones planteadas en este capítulo. De esta manera, la reacción de dendronización entre Ch y Weis fue efectiva en diversas condiciones de síntesis. Además, las reacciones subsecuentes de hidrólisis ácida y de cuaternarización con GTMAC para dar lugar a Ch-WeisCOOH y Ch-Weis-GTMAC respectivamente, se llevaron a cabo de manera exitosa, dando lugar a productos que presentaron una mejora en su solubilidad en soluciones acuosas, determinada por análisis cualitativo, en comparación al Ch nativo.

El comportamiento de estas muestras frente a la temperatura se evaluó mediante DSC, como se muestra en la Figura 1.6.



*Figura 1.6: Curvas de DSC para Ch y los productos obtenidos.*

Se comparó la respuesta de Ch nativo y de los productos de síntesis Ch-Weis 3,5, Ch-WeisCOOH, y Ch-Weis-GTMAC. Dado que todas las muestras presentan en su estructura gran cantidad de grupos polares, son capaces de retener moléculas de agua por adsorción física mediante puentes hidrógeno. En los termogramas se observó un pico exotérmico a temperaturas cercanas a 100°C, lo que corresponde a la pérdida de agua fisi-adsorbida en los polímeros analizados. Para todas las muestras, la descomposición termo-oxidativa se observó a temperaturas cercanas a 310°C, sin embargo, la temperatura de degradación es ligeramente diferente para las muestras que sufrieron el proceso de dendronización. Por último, para la muestra de Ch-WeisCOOH se observó decarboxilación de los grupos ácido a temperaturas cercanas a 250°C.

El análisis integral de los resultados permitió confirmar fehacientemente la incorporación del dendrón y la posterior modificación de la matriz polimérica dendronizada sintetizada en un principio, para dar los productos deseados.

## Conclusiones Parciales

En esta parte del trabajo se optimizó la síntesis de Ch-Weis empleando una metodología que minimizó la producción de residuos y obteniendo una técnica más amigable con el medioambiente, haciendo énfasis en los principios de la química verde. Además, se obtuvieron dos derivados dendríticos de Ch: Ch-WeisCOOH y Ch-Weis-GTMAC. El producto hidrolizado presentó una buena solubilidad en soluciones acuosas, mientras que el producto cuaternarizado fue fácilmente dispersable en estas soluciones, propiedad que no presentaba el intermediario Ch-Weis.

Los productos sintetizados presentan un increíble potencial para su uso futuro, ya que los mismos tienen como base un biopolímero no tóxico y biodegradable, a la vez que incorporan, por una metodología sencilla y efectiva, estructuras dendríticas.



## *Capítulo 2*

---

*Polímeros basados en Aminotriéster.  
Síntesis y caracterización de monómeros  
y polímeros dendronizados*

## Planteo Experimental

Sabiendo que la metodología de polimerización de un monómero dendrítico da lugar a un polímero con 100% de dendronización, se propuso realizar la síntesis total de un polímero dendronizado siguiendo esta metodología. Como primer paso, se modificó el punto focal del dendrón comercial Aminotriéster, acrilando el grupo amino para obtener un doble enlace polimerizable. Posteriormente, y con el fin de obtener un monómero hidrosoluble, se realizó la hidrólisis ácida de los grupos periféricos del dendrón.

Una vez obtenido un monómero dendrítico hidrosoluble, se polimerizó el mismo en condiciones radicalarias clásicas para obtener el polímero deseado.

## Métodos

### Síntesis de cloruro de acrilóilo (AcCl)

Un total de 12 mL de AA, previamente destilado, 35 mL de cloruro de benzoilo y 200 mg de hidroquinona, como inhibidor de la polimerización, se colocaron en un sistema para destilación fraccionada. El sistema se llevó a régimen y se recolectó la fracción que destiló a temperaturas menores a 85°C en un balón enfriado conteniendo 200 mg de hidroquinona. La fracción recuperada se destiló nuevamente, colectando la fracción correspondiente a 72-74°C. El AcCl recuperado se almacenó junto a hidroquinona a -14°C y protegido de la luz.

## Síntesis de ácido 4-acriloilamino-4-(carboxietil)heptanodioico (ABC)

Un total de 1,0094 g ( $2,42 \times 10^{-3}$  mol) de Aminotriéster se disolvieron en 8 mL de DCM en un balón conteniendo 0,8000 g ( $5,07 \times 10^{-3}$  mol) de  $K_2CO_3$  anhidro. El sistema se cerró con una septa de goma y se llevó a un baño de hielo. Luego, se adicionaron lentamente 0,3 mL ( $3,70 \times 10^{-3}$  mol) de  $AcCl$  y la reacción se mantuvo con agitación vigorosa por una hora en baño de hielo, y luego por una noche a temperatura ambiente.

El crudo de reacción se filtró y el sobrenadante se lavó con dos fracciones de 25 mL de  $HCl$  0,01M, dos fracciones de 25 mL de solución saturada de  $NaHCO_3$ , dos fracciones de 25 mL de solución saturada de  $NaCl$  y por último, 2 fracciones de 25 mL de  $H_2O$  destilada. La fase orgánica se secó sobre  $MgSO_4$  anhidro, se filtró y se concentró en rotavapor, dando un sólido blanco correspondiente a di-*ter*-butil 4-acriloilamino-4-[(2-*ter*-butoxicarbonil)etil] 1,7-heptanodioato (*AcBeh*). (Rendimiento: 91 %)

Un total de 1,0257 g ( $2,18 \times 10^{-3}$  mol) de *AcBeh* se disolvieron en 1 mL de acetona en un balón junto con 7 mL ( $0,15$  mol) de ácido fórmico. La reacción se mantuvo por 60 horas a temperatura ambiente con agitación vigorosa. Transcurrido el tiempo de hidrólisis, se eliminó el exceso de ácido fórmico y el subproducto de la reacción empleando rotavapor. Para eliminar completamente el solvente, se añadieron tres alícuotas de 1 mL de tolueno para formar el azeótropo correspondiente. El producto ABC fue obtenido como un sólido de color blanco. (Rendimiento 98%)

## Polimerización de ABC (poli(ABC))

Un total de 30,7 mg ( $1,01 \times 10^{-3}$  mol) de ABC previamente sintetizado y 1,7 mg ( $7,44 \times 10^{-5}$  mol) de APS se disolvieron en 10 mL de agua destilada en un balón para tal fin. Se adicionó 0,1 mL de una solución 0,5M ( $5,00 \times 10^{-5}$  moles) de TEMED y se dejó reaccionar por 24 horas a temperatura

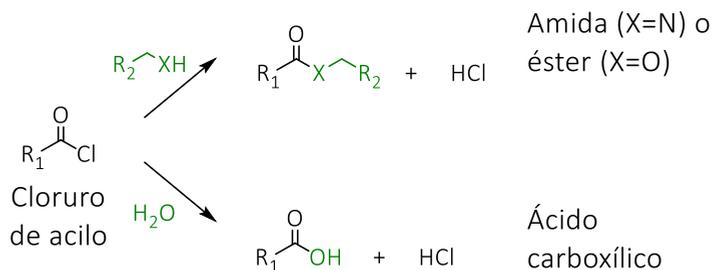
ambiente. Luego, se liofilizó para eliminar el exceso de H<sub>2</sub>O y se disolvió la solución viscosa resultante en 1 mL de metanol y se precipitó con 7 mL de éter etílico, luego se centrifugó y el sólido recuperado se disolvió y precipitó de la misma forma dos veces más. El producto poli(ABC) se secó al vacío dando un sólido de color blancuzco. (Rendimiento: 42%)

## Resultados y Discusión

La obtención de un polímero con un grado del 100% de dendronización, es decir, que cada unidad repetitiva del polímero tuviese una molécula dendrítica se planteó como objetivo principal de esta sección del trabajo. De este modo, el diseño experimental consistió en dos etapas. La primera involucró la obtención de un monómero dendrítico, mientras que la segunda correspondió a la posterior polimerización del mismo.

### Monómero dendrítico ABC

Para la obtención del monómero dendrítico, se decidió utilizar una molécula de la familia de los dendrones comerciales del tipo Newkome, en este caso el Aminotriéster o Amina de Behera. La metodología para obtener dicho monómero, y siendo la más fácil, eficiente y puesta a punto en el grupo de investigación, fue la acrilación del grupo amino libre con cloruro de acrililo<sup>39</sup>. Si bien la reacción de acrilación es un procedimiento relativamente sencillo, se realizó una pequeña modificación en el desarrollo experimental. El mismo consistió en emplear  $K_2CO_3$  anhidro para neutralizar las especies ácidas producidas en el medio de reacción. Es sabido, que la reacción entre un cloruro de acilo o cloruro de ácido con un nucleófilo (o con el agua presente en la mezcla de reacción) libera HCl al medio, tal como lo muestra el Esquema 2.1.



*Esquema 2.1: reacción competitiva entre un cloruro de acilo y un nucleófilo o una molécula de  $H_2O$ .*

El agente neutralizador utilizado por excelencia es TEA, una amina levemente básica que capta el HCl formado durante la reacción, para formar el cloruro de trietilamonio. Si bien esta amina cumple muy bien su propósito, tanto el exceso de TEA como parte del subproducto formado, resultan solubles en el solvente de reacción, ocasionando un mayor esfuerzo a la hora de purificar el producto deseado. Para evitar este inconveniente, se empleó una base inorgánica insoluble en solventes orgánicos clásicos. El empleo de  $K_2CO_3$  anhidro fue reportado como una alternativa al uso de TEA<sup>40</sup>. En este caso, tanto el exceso de carbonato, como el carbonato ácido formado, resultaron prácticamente insolubles en solventes orgánicos como el DCM con lo cual, una filtración simple permitió eliminar este reactivo de forma muy sencilla y no fue necesario recurrir a técnicas adicionales de purificación.

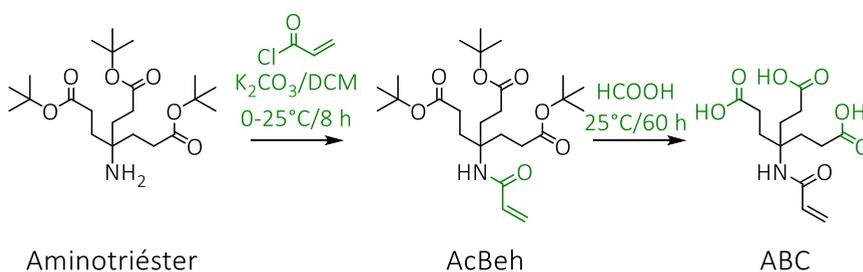
Además de su utilización como agente neutralizador, se constataron beneficios adicionales del uso del carbonato anhidro en lugar de aminas básicas clásicas. Por un lado, al tratarse de una sal higroscópica, la misma se utilizó para asegurar y mantener el solvente de trabajo seco, lográndose así otro punto a favor en el uso de esta sal inorgánica en lugar de otras aminas básicas clásicas. Por otro lado, esta sal inorgánica resultó

más amigable al medio ambiente y menos tóxica que otros compuestos orgánicos.

Considerando estos puntos, el uso de  $K_2CO_3$  anhidro como agente neutralizador para la reacción resultó altamente ventajoso.

El monómero dendrítico AcBeh fue sintetizado exitosamente en este punto. La acrilación entre el punto focal amino del dendrón y el AcCl introdujo un doble enlace carbono-carbono polimerizable en la molécula.

Una vez obtenido el monómero AcBeh, se hidrolizaron los grupos éster *ter*-butilo del dendrón a fin de obtener grupos ácido hidrofílicos en la periferia del mismo. El Esquema 2.2, muestra los pasos involucrados en la obtención del monómero de ABC.



*Esquema 2.2: condiciones de síntesis para la obtención de ABC.*

La caracterización tanto del intermediario sintético, como del monómero dendrítico ABC, se realizó por  $^1\text{H}$  y  $^{13}\text{C}$ -RMN, tal como se muestra en las Figura 2.1 y 2.2, respectivamente.

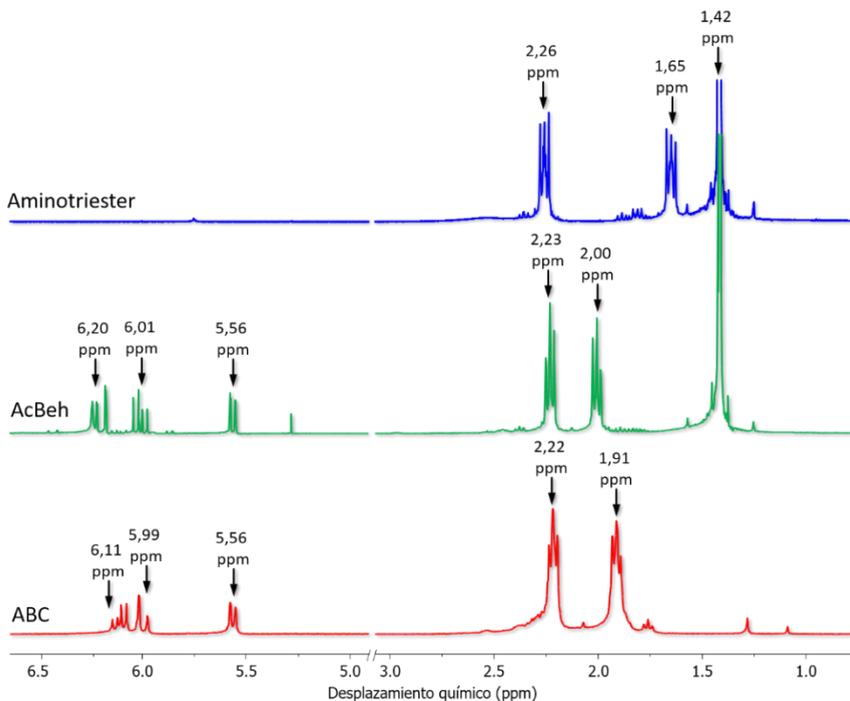


Figura 2.1:  $^1\text{H-RMN}$  de Aminotriéster, AcBeh y ABC.

El producto de acrilación AcBeh mostró la aparición de las señales de los protones vinílicos a ( $\delta = 6,20$  ppm; 1H), ( $\delta = 6,01$  ppm; 1H) y ( $\delta = 5,56$  ppm; 1H), además de las señales características de la amina de partida Aminotriéster, correspondientes a los grupos metileno ( $\delta = 2,26$  ppm; 6H) y ( $\delta = 1,65$  ppm; 6H) y los grupos *ter*-butilo ( $\delta = 1,42$  ppm; 27H). A su vez, la relación entre las áreas de integración de las señales vinílicas y las correspondientes al esqueleto carbonado del dendrón, permitieron calcular un porcentaje de 98% de pureza del producto deseado. El espectro del monómero ABC mostró la desaparición de la señal intensa a ( $\delta = 1,42$  ppm; 27H), correspondiente a los protones de los grupos metilo de los *ter*-butilos. También se observó que las señales correspondientes a

los protones vinílicos se encuentran inalteradas, por lo que se corroboró que los mismos fueron estables frente a las condiciones de hidrólisis.

Utilizando  $^{13}\text{C}$ -RMN se corroboraron los resultados presentados anteriormente. El espectro del producto AcBeh evidenció la aparición de dos nuevas señales a 125,9 y 131,7 ppm, correspondientes a los carbonos vinílicos del acrilato. También, fue posible detectar una nueva señal correspondiente al carbono carbonílico del acrilato incorporado a 164,9 ppm. En conjunción a esto, se observaron las señales características del esqueleto carbonado del Aminotriéster que no sufrió alteraciones en el proceso sintético, a 28,0 y 29,8 ppm (carbonos de los grupos metilenos internos); 32,8 ppm (carbonos de los grupos *ter*-butilo); 57,6 ppm (carbono cuaternario interno); 80,7 ppm (carbono cuaternario de los grupos *ter*-butilos) y 173,0 (carbono carbonílico).

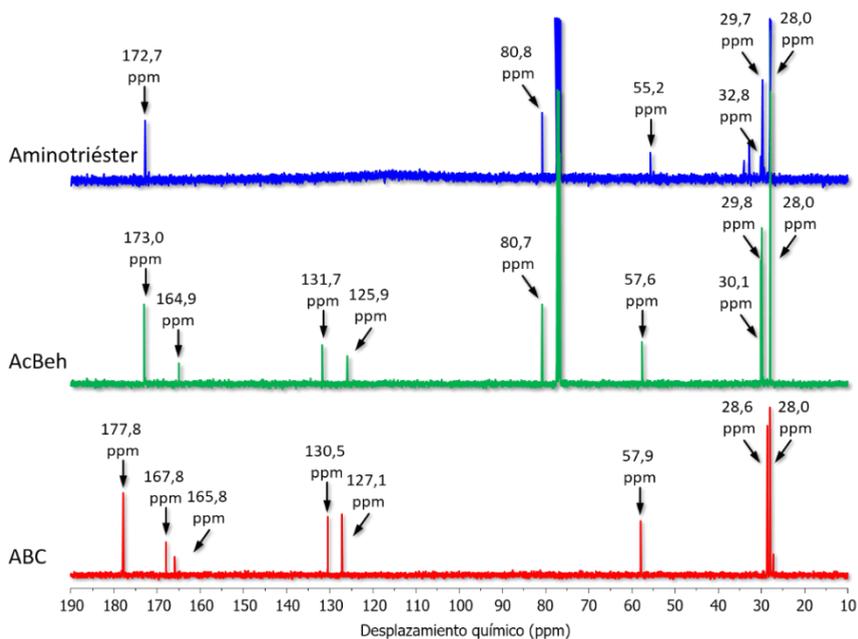


Figura 2.2:  $^{13}\text{C}$ -RMN de Aminotriéster, AcBeh y ABC.

Por su parte, el espectro de  $^{13}\text{C}$ -RMN de ABC mostró la desaparición de las señales correspondientes a los carbonos de los grupos *ter*-butilo que se encontraban a 30 ppm, al mismo tiempo que siguen siendo observables los carbonos del doble enlace a 127,1 y 130,5 ppm. Además, la señal del carbono carbonílico del dendrón, que antes se posicionaba a 173,0 ppm, se encontró ahora a 177,8 ppm. Esto es el resultado del cambio de su entorno químico, ya que pasó de formar parte de un grupo éster a un grupo ácido, generando un desplazamiento a campos mayores.

Estos resultados demostraron claramente que la acrilación de la molécula dendrítica fue lograda con éxito, habiéndose sintetizado el monómero dendrítico hidrofílico buscado.

Vale aclarar que en el procedimiento mostrado con anterioridad, no fue necesario recurrir a una técnica de purificación para obtener AcBeh. Si esto ha de ser necesario, la metodología a seguir consistiría en la realización de una columna cromatográfica empaquetada con sílica gel y la utilización de una mezcla de *n*-hexano:acetato de etilo (6:4) como fase móvil<sup>26</sup>.

Tanto el exceso de ácido fórmico, como el *ter*-butanol que surgieron como producto secundario de la hidrólisis de AcBeh, fueron eliminados a presión reducida. Dado que la presión de vapor del ácido fórmico es baja, se adicionaron al sistema alícuotas de tolueno a fin de formar el azeótropo correspondiente, el cual facilita la eliminación del mismo<sup>41</sup>.

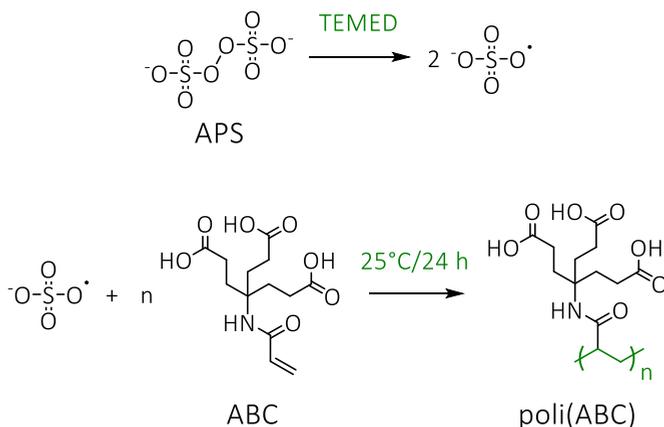
Lograda la completa eliminación tanto del reactivo en exceso como el subproducto, se obtuvo un rendimiento cuantitativo de la reacción.

### Polímero dendronizado poli(ABC)

Un vez obtenido el monómero dendrítico, se polimerizó el mismo empleando una metodología radicalaria clásica. Para tal fin, se utilizó la

cupla APS/TEMED. Este sistema redox genera radicales sulfato, los cuales dan inicio a la polimerización.

El Esquema 2.3 muestra los pasos sintéticos involucrados en la polimerización de ABC.



*Esquema 2.3: condiciones de síntesis para la obtención de poli(ABC).*

El polímero obtenido se caracterizó por ensayos de GPC para determinar su masa molar en número  $M_n$ , masa molar en peso  $M_w$ , e índice de polidispersidad  $PDI^{A2}$ , dando como resultados los valores que se encuentran en la Tabla 2.1.

*Tabla 2.1: Masas molares de poli(ABC) determinadas por GPC.*

| Muestra   | $M_n$ (g/mol) | $M_w$ (g/mol) | PDI  |
|-----------|---------------|---------------|------|
| poli(ABC) | 1276,8        | 1490,7        | 1,16 |

Estos resultados significaron la obtención de un polímero con grado de dendronización del 100%, dado por la presencia de una estructura dendrítica en cada unidad monomérica. La importancia de este polímero radicó en la posibilidad de utilización como base para los sistemas que se mostrarán en los Capítulos siguientes.

## Conclusiones Parciales

En esta etapa del trabajo se sintetizó un monómero dendrítico a partir de unidades constructivas comerciales, empleando reactivos y metodologías sencillas, eficientes y robustas. La modificación sintética introducida para la acrilación del dendrón comercial significó una mejora sustancial a la hora de realizar el proceso de purificación del mismo. A la vez, se implementaron mejoras tendientes a favorecer el uso de los principios de la Química Verde al emplear una sal inorgánica inocua en lugar de los reactivos clásicos, menos amigables con el medio ambiente.

El polímero obtenido en esta parte fue de gran importancia sintética, ya que todas sus unidades repetitivas presentaron estructuras dendríticas, dándole un especial interés para las siguientes etapas de trabajo.

## Referencias

- (1) Gitsov, I. *J. Polym. Sci. Part A Polym. Chem.* **2008**, *46* (16), 5295–5314.
- (2) Schlüter, A. D.; Rabe, J. P. *Angew. Chemie - Int. Ed.* **2000**, *39*, 864–883.
- (3) Paez, J. I.; Martinelli, M.; Brunetti, V.; Strumia, M. C. *Polymers*, **2012**, *4* (4), 355–395.
- (4) Tomalia, D. A.; Kirshhoff, P. M. Patent US4694064 - Rod-shaped dendrimer, September 15, **1987**.
- (5) Tomalia, D. A.; Naylor, A. M.; Goddard, W. A. *Angew. Chemie - Int. Ed.* **1990**, *29*, 138–175.
- (6) Yin, R.; Zhu, Y.; Tomalia, D. A. *J. Am. Chem. Soc.* **1998**, *120*, 2678–2679.
- (7) Hawker, C. J.; Fréchet, J. M. J. *Polymer*, **1992**, *33* (7), 1507–1511.
- (8) Frauenrath, H. *Prog. Polym. Sci.* **2005**, *30*, 325–384.
- (9) Halperin, A.; Vlassopoulos, D.; Wegner, G.; Zhang, B. *ACS Macro Lett.* **2014**, *3*, 991–998.
- (10) Esen, H. *Des. Monomers Polym.* **2015**, *18* (8), 745–752.
- (11) Yu, H.; Schlüter, A. D.; Zhang, B. *Macromolecules* **2012**, *45*, 8555–8560.
- (12) Jayakumar, R.; Menon, D.; Manzoor, K.; Nair, S. V.; Tamura, H. *Carbohydr. Polym.* **2010**, *82* (2), 227–232.
- (13) Kurita, K. *Polym. Degrad. Stab.* **1998**, *59*, 117–120.
- (14) Inamdar, N. N.; Mourya, V. In *Advanced Biomaterials and Biodevices*; Tiwari, A., Nordin, A. N., Eds.; Scrivener Publishing LLC, **2014**.
- (15) Dash, M.; Chiellini, F.; Ottenbrite, R. M.; Chiellini, E. *Prog. Polym. Sci.* **2011**, *36* (8), 981–1014.

- (16) Abdelaal, M. Y.; Sobahi, T. R.; Al-Shareef, H. F. *Int. J. Biol. Macromol.* **2013**, *55*, 231–239.
- (17) Satoh, T.; Kano, H.; Nakatani, M.; Sakairi, N.; Shinkai, S.; Nagasaki, T. *Carbohydr. Res.* **2006**, *341* (14), 2406–2413.
- (18) Lim, S. H.; Hudson, S. M. *Carbohydr. Res.* **2004**, *339* (2), 313–319.
- (19) Luo, J.; Wang, X.; Xia, B.; Wu, J. J. *Macromol. Sci. Part A* **2010**, *47* (9), 952–956.
- (20) Wu, J.; Wei, W.; Wang, L. Y.; Su, Z. G.; Ma, G. H. *Biomaterials* **2007**, *28* (13), 2220–2232.
- (21) Gorochovceva, N.; Makuška, R. *Eur. Polym. J.* **2004**, *40* (4), 685–691.
- (22) Liu, L.; Li, Y.; Liu, H.; Fang, Y. *Eur. Polym. J.* **2004**, *40* (12), 2739–2744.
- (23) Feng, H.; Dong, C. M. *Carbohydr. Polym.* **2007**, *70* (3), 258–264.
- (24) Rzaev, Z. M. O.; Dinçer, S.; Pişkin, E. *Prog. Polym. Sci.* **2007**, *32* (5), 534–595.
- (25) Zhang, C.; Ping, Q.; Zhang, H.; Shen, J. *Eur. Polym. J.* **2003**, *39* (8), 1629–1634.
- (26) Newkome, G. R.; Behera, R. K.; Moorefield, C. N.; Baker, G. R. *J. Org. Chem.* **1991**, *56* (25), 7162–7167.
- (27) Newkome, G. R.; Kotta, K. K.; Moorefield, C. N. *J. Org. Chem.* **2005**, *70*, 4893–4896.
- (28) Newkome, G. R.; Weis, C. D.; Moorefield, C. N.; Fronczek, F. R. *Tetrahedron Lett.* **1997**, *38* (40), 7053–7056.
- (29) Ribeiro, M. G. T. C.; Costa, D. A.; Machado, A. A. S. C. *Green Chem. Lett. Rev.* **2010**, *3* (2), 149–159.
- (30) Huybrechts, J.; Bruylants, P.; Vaes, A.; De Marre, A. *Prog. Org. Coatings* **2000**, *38*, 67–77.
- (31) Lu, Q. W.; Hoyer, T. R.; Macosko, C. W. *J. Polym. Sci. Part A Polym. Chem.* **2002**, *40* (14), 2310–2328.

- (32) Pannone, M. C.; Macosko, C. W. *J. Appl. Polym. Sci.* **1987**, *34* (7), 2409–2432.
- (33) Aldana, A. A.; Toselli, R.; Strumia, M. C.; Martinelli, M. *J. Mater. Chem.* **2012**, *22*, 22670–22677.
- (34) Aldana, A. A.; Martinelli, M.; Strumia, M. *Macromol. Symp.* **2010**, *298* (1), 99–107.
- (35) Constable, D. J. C.; Curzons, A. D.; Cunningham, V. L. *Green Chem.* **2002**, *4* (6), 521–527.
- (36) Duer, M. J. *Introduction to Solid-State NMR Spectroscopy*; Wiley-Blackwell, **2005**.
- (37) Sugandhi, E. W.; Macri, R. V.; Williams, A. a.; Kite, B. L.; Slebodnick, C.; Falkinham, J. O.; Esker, A. R.; Gandour, R. D. *J. Med. Chem.* **2007**, *50* (7), 1645–1650.
- (38) Cho, T. J.; Zangmeister, R. A.; Maccuspie, R. I.; Patri, A. K.; Hackley, V. A. *Chem. Mater.* **2011**, *23* (10), 2665–2676.
- (39) Cuggino, J. C.; Calderón, M.; Alvarez, C. I.; Strumia, M. C.; Silva, K. N.; Penott-Chang, E. K.; Müller, A. J. *J. Colloid Interface Sci.* **2011**, *357* (1), 147–156.
- (40) Cai, L.; Wang, S. *Biomacromolecules* **2010**, *11* (1), 304–307.
- (41) Cherian, M. Procedimiento para eliminar disolventes de alto punto de ebullición de formulaciones de fármacos por secado a vacío. Oficina Española de Patentes y Marcas, **2000**.
- (42) Billmeyer, F. W. *Textbook of Polymer Science*, 3rd Ed.; Wiley, **1984**.



## *Parte II*

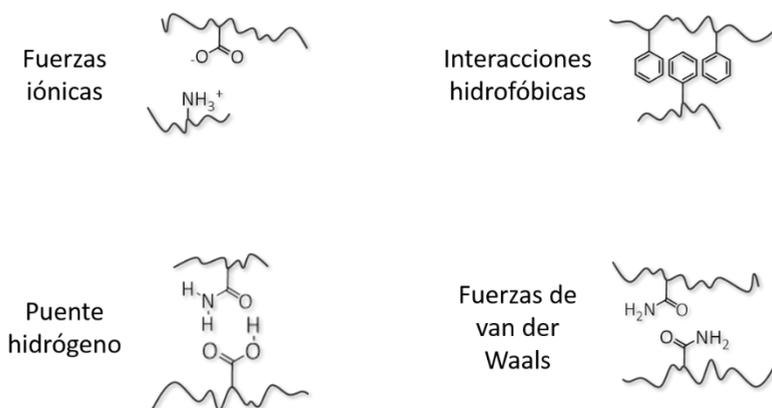
---

### *Hidrogeles. Síntesis, caracterización y estudio de sus propiedades*

## Antecedentes y Generalidades

En base a lo presentado en la Introducción General, en esta sección del trabajo se ahondará en una clase especial de hidrogeles, que han despertado el interés científico en los últimos tiempos<sup>1</sup>. Estos son los polímeros con respuesta a estímulos, o comúnmente denominados hidrogeles inteligentes. Esta clase particular de materiales tienen la capacidad de responder de manera reversible a cambios en el medio externo. De esta manera, una deformación o cambio en su tamaño u otra propiedad física se puede lograr a partir de estímulos tales como pH, temperatura, campo magnético, condiciones oxido-reductoras, luz, entre otros<sup>2-11</sup>.

Las propiedades de los hidrogeles sensibles al medio están controladas fundamentalmente por las interacciones polímero-polímero y polímero-solvente. Sin embargo, la magnitud del cambio observable, depende de la identidad y cantidad del o de los grupos funcionales presentes<sup>12</sup>. Específicamente, las interacciones que tienen lugar en los procesos de cambio de volumen, ya sea hinchamiento o colapso, de estos materiales involucra fuerzas iónicas, del tipo puente hidrógeno, fuerzas de van der Waals, o interacciones hidrofóbicas. Estas fuerzas son las responsables de la interconversión del gel entre las dos fases posibles. Por un lado, si las condiciones ambientales mantienen o causan que una o varias de estas interacciones sean más fuertes, el hidrogel tenderá a colapsar, expulsando el solvente. Por otro lado, los estímulos externos podrían ser los responsables de minimizar estas interacciones, o bien de generar fuerzas repulsivas entre los grupos funcionales, expandiendo el gel mediante el ingreso de solvente a la red. Estas transiciones de fase proporcionan un cambio en las propiedades físicoquímicas del polímero<sup>13</sup>. La Figura II.I representa las fuerzas que controlan el comportamiento de los hidrogeles inteligentes.

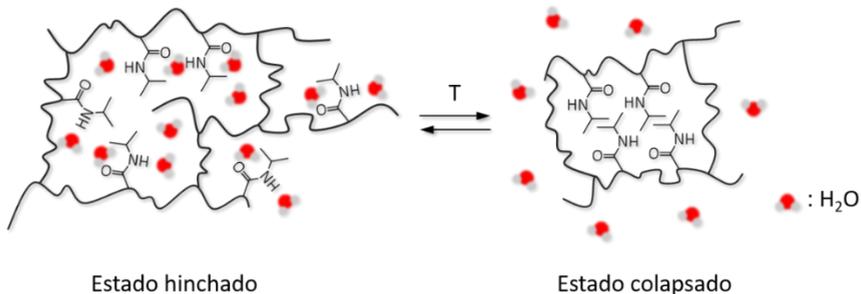


*Figura II.1: fuerzas involucradas en el comportamiento de los hidrogeles inteligentes.*

Particularmente, los hidrogeles sensibles a la temperatura y al pH son los polímeros inteligentes más estudiados en los últimos tiempos<sup>14</sup>. En este sentido, la presencia de grupos hidrofóbicos en la estructura polimérica es uno de los factores que induce termosensibilidad. Especialmente, polímeros basados en monómeros como N-isopropil acrilamida (NiPAm), vinilcaprolactama u oligo(etilenglicol) monometil éter metacrilato, son ampliamente estudiados como sistemas sensibles a la temperatura, por tener una transición de fase cercana a la temperatura corporal humana<sup>15-17</sup>.

Los polímeros basados en NiPAm, uno de los materiales termosensibles aquí empleado, y probablemente uno de los más estudiados en este campo, exhibe una respuesta a la temperatura dada por la presencia de los grupos amido así como de las cadenas pendientes de grupos isopropilo. En este sentido, a temperaturas menores a la de su transición de fase (32-33°C), prevalecen las interacciones polímero-solvente mediante puente hidrógeno entre los grupos amido y moléculas de agua. A temperaturas superiores a la temperatura de transición de fase, el

balance hidrofílico-hidrofóbico cambia, aumentando la componente dada por la interacción hidrofóbica proveniente de los grupos isopropilo pendientes en el polímero. En este punto, el colapso del gel se manifiesta mediante la desolvatación de la red<sup>18-21</sup>. La Figura II.II representa la transición de fase presentada por redes poliméricas basados en NiPAm.



*Figura II.II: representación esquemática del balance hidrofílico-hidrofóbico presente en la transición de fase en polímeros basados en NiPAm.*

Este hecho, sumado a la posibilidad de copolimerizar NiPAm con otros monómeros para obtener materiales de respuesta dual, ha posicionado a este monómero como uno de los más ampliamente utilizado para la preparación de polímeros lineales o entrecruzados y estudiar sus propiedades<sup>21,22</sup>. A su vez, diversos materiales de este tipo han sido empleados como sistemas de liberación controlada de moléculas de interés, vectores para terapia génica, como sistemas de soporte para la separación de proteínas u otras biomoléculas de interés<sup>21,23-26</sup>.

Por otro lado, en esta sección del trabajo de Tesis se emplearon hidrogeles sensibles a cambios de pH en el medio circundante. Estos polímeros se caracterizan por tener grupos pendientes ácidos, como grupos carboxílico o sulfonilo, o grupos básicos, como grupos amino, los

cuales pueden ceder o aceptar protones del medio, respectivamente, y así cambiar la naturaleza iónica<sup>12,17,27</sup>. Cuando el pH del medio se encuentra por debajo o por encima del pKa del grupo funcional presente en el polímero, el mismo tenderá a protonarse o deprotonarse, dependiendo el caso, dejando o no carga neta sobre el mismo. La presencia de cargas similares en las cadenas poliméricas y la consiguiente repulsión de las mismas provocan una expansión de la red, con el resultante ingreso de solvente de hinchamiento a la matriz polimérica. De este modo, la presencia de grupos ácidos en el hidrogel genera respuesta al pH por encima de su pKa, mientras que para los polímeros conteniendo grupos básicos, la respuesta se manifiesta por debajo del pKa de los mismos. La Figura II.III representa la transición de fase en hidrogeles pH sensibles.

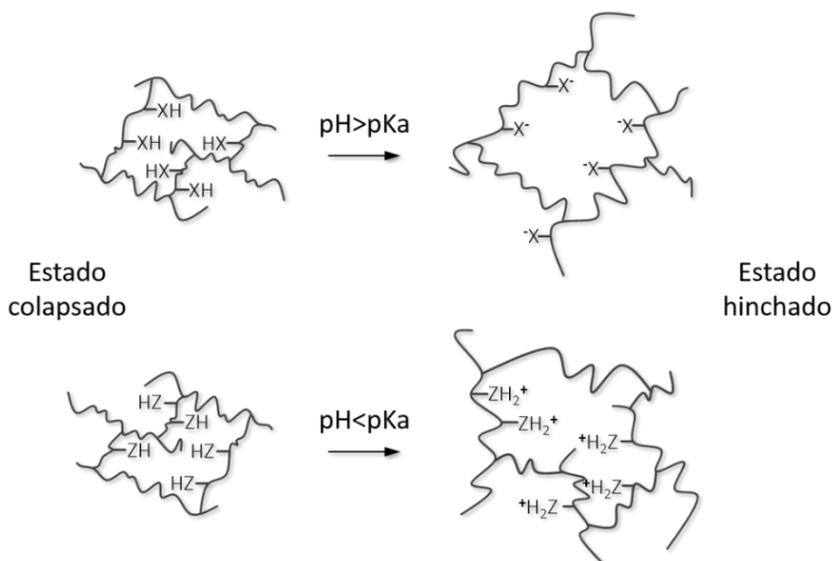


Figura II.III: transición de fase en hidrogeles pH sensibles.

Para modular el efecto de la presencia de monómeros con grupos iónicos, se puede plantear la copolimerización de los mismos con monómeros no iónicos. Uno de los sistemas más empleados es el uso de 2-hidroxietil metacrilato (HEMA) como comonomero en la reacción de polimerización, ya que se trata de un monómero hidrofílico neutro.

En 1960, Wichterle y colaboradores describieron la polimerización y el entrecruzamiento de HEMA en solventes acuosos, para preparar geles suaves, con buenas propiedades elásticas y no irritantes, aptos para aplicaciones biológicas<sup>28</sup>. Desde este punto, el uso de HEMA en diversos productos poliméricos se ha visto en aumento dada su fácil preparación y sus excelentes propiedades<sup>29,30</sup>.

En los Capítulos siguientes se discuten las diferentes metodologías de síntesis empleadas para cumplir con el objetivo de preparar redes poliméricas expandibles. En este sentido, se obtuvieron hidrogeles sensibles a los cambios de pH del medio, mediante la copolimerización de HEMA con monómeros ácidos o monómeros básicos, como lo son ácido itacónico y 2-aminoetil metacrilato, respectivamente. Por otro lado, se planteó la obtención de hidrogeles dendronizados con respuesta dual a estímulos, para lograr un sistema novedoso, sensible a cambios de temperatura y de pH de manera simultánea, empleando NiPAm y el monómero dendrítico ABC.





## *Capítulo 3*

---

### *Redes expandibles basadas en polímeros lineales entrecruzados covalentemente*

## Planteo Experimental

Considerando el conocimiento previo adquirido en el uso de polímeros lineales, tales como Ch y sus variantes de modificación planteadas en el Capítulo 1, como así otros polímeros lineales naturales u otros sintetizados en el laboratorio, se decidió su empleo como base para obtener hidrogeles. La metodología que se empleó fue el entrecruzamiento por medio de uniones covalentes de cadenas de polímeros lineales con agentes entrecruzantes, comerciales o previamente sintetizados.

## Métodos

### Síntesis de polímeros lineales

#### Síntesis de poli(ácido itacónico)(*poli(IA)*)

Un total de 30,0792 g (0,23 mol) de IA se llevaron a un balón de tres bocas, equipado con tubo refrigerante y entrada y salida de N<sub>2</sub>. El monómero se disolvió en 250 mL de H<sub>2</sub>O destilada y previamente desoxigenada bajo flujo de N<sub>2</sub>. La solución se acidificó adicionando 3 mL de una solución HCl 1M. Luego, la solución se calentó a 50°C con agitación vigorosa y un total de 1,2574 g (5,51 x10<sup>-3</sup> mol) de APS y 5 mL (3,72 x10<sup>-2</sup> mol) de TEOHA se agregaron como cupla redox iniciadora. La reacción se dejó transcurrir por 72 horas en las condiciones mencionadas anteriormente. La solución de leve coloración rosada se vertió sobre 1,5 L de 2-propanol y se llevó a -14°C por 48 horas. El sólido de coloración rosada pálida se recuperó por centrifugación y se secó a 60°C hasta masa constante.

Una segunda precipitación del polímero se logró concentrando el sobrenadante resultante de la centrifugación mediante destilación simple. La fracción no destilada se vertió sobre 0,8 L de acetona y se llevó a  $-14^{\circ}\text{C}$  por 48 horas. El sólido resultante se recuperó por centrifugación y se secó a  $60^{\circ}\text{C}$  hasta masa constante. (Rendimiento total: 25% (primera precipitación), 56% (primera y segunda precipitación))

### Síntesis de quitosán cuaternarizado (*Ch-GTMAC*)

Un total de 0,9988 g ( $5,96 \times 10^{-3}$  mol) de Ch fueron dispersados en 14 mL de  $\text{H}_2\text{O}$  destilada en un equipo para reflujo. El sistema se llevó a  $85^{\circ}\text{C}$  y se adicionaron 225  $\mu\text{L}$  ( $1,51 \times 10^{-2}$  mol) GTMAC, en tres alícuotas de 75  $\mu\text{L}$  cada intervalos de 2 horas. Se dejó la reacción por un total de 7 horas, desde el primer agregado de GTMAC, a  $85^{\circ}\text{C}$  y agitación vigorosa.

Luego del tiempo de reacción, el crudo de reacción presentaba una apariencia viscosa de color amarillenta, la cual fue precipitada con 25 mL de acetona fría y llevada a  $-4^{\circ}\text{C}$  por una noche. La muestra se centrifugó y el sólido recuperado se redisolvió en 5 mL de  $\text{H}_2\text{O}$ . La solución se precipitó nuevamente en 40 mL de mezcla acetona:etanol (4:1) y centrifugada para recuperar el sólido. El proceso de redisolución en  $\text{H}_2\text{O}$  y precipitación en acetona:etanol fue repetido tres veces. Finalmente, el producto de síntesis fue solubilizado en 5 mL de  $\text{H}_2\text{O}$ , liofilizado y mortereado hasta obtener un polvo fino de color blanquecino. (Rendimiento: 88%)

## Síntesis de agente entrecruzante

### Síntesis de dihidrazida de ácido adípico (DAA)

Un total de 5 mL ( $1,84 \times 10^{-2}$  mol) de di-isobutil adipato, se llevaron a un equipo para reflujo, junto a 4,2 mL ( $5,28 \times 10^{-2}$  mol) de hidrazina y 5 mL de etanol absoluto. El sistema se llevó a reflujo por 3,5 horas con agitación vigorosa. Concluido el tiempo de reacción, se dejó enfriar el sistema. El precipitado blanquecino formado se recuperó por filtración y se recrystalizó empleando 300 mL de etanol absoluto. El sólido recuperado en esta instancia se secó hasta masa constante y presentó un color blanco. (Rendimiento 69%)

## Preparación de hidrogeles

### Poli(IA) entrecruzado con DAA

Se evaluó la formación de redes poliméricas empleando 12%, 15%, 20% y 25% de masa de entrecruzante en relación a la masa de poli(IA). Para todos los casos, el procedimiento seguido fue similar y se detalla a continuación.

Aproximadamente 150 mg de poli(IA) junto con la cantidad necesaria de EDC se disolvieron en 3 mL de H<sub>2</sub>O destilada y se dejaron en agitación a temperatura ambiente por 15 minutos. La cantidad de DAA correspondiente se agregó a la solución y la misma se trasvasó a una jeringa de polipropileno que sirvió de reactor. La reacción se dejó transcurrir a 55°C por 24 horas y luego a temperatura ambiente por 72 horas. Transcurrido dicho tiempo, el gel formado presentó una coloración verdosa, el cual se cortó en discos de 2 mm de espesor que se lavaron en H<sub>2</sub>O destilada por 4 días, realizando cambio del solvente de lavado cada 24 horas. Luego de los lavados, los discos de polímero se secaron a 50°C hasta masa constante, observándose una coloración verdosa opalescente.

### Alginato de sodio entrecruzado con DAA

0,1511 g ( $7,62 \times 10^{-4}$  mol de grupos -COOH) de alginato de sodio junto con 21,5 mg ( $1,12 \times 10^{-4}$  mol) de EDC se disolvieron en 3 mL de H<sub>2</sub>O destilada y se dejaron en agitación a temperatura ambiente por 15 minutos. 15,0 mg ( $8,61 \times 10^{-5}$  mol) de DAA se agregaron a la solución y la misma se trasvasó a una jeringa de polipropileno que sirvió de reactor. La reacción se dejó transcurrir a 55°C por 60 horas y luego a temperatura ambiente por 72 horas. Transcurrido dicho periodo, no se formó gel a pesar de realizar diversas variaciones sintéticas relacionadas con tiempo y temperatura de polimerización.

### Ch-GTMAC entrecruzado con glutaraldehido

Se evaluó la formación de redes poliméricas empleando 1%, 1,5%, 2% y 10% de masa de entrecruzante en relación a la masa de Ch-GTMAC. Para todos los casos, el procedimiento seguido fue similar y se detalla a continuación.

Aproximadamente 120 mg de Ch-GTMAC se disolvieron en 9 mL de H<sub>2</sub>O destilada y se dejaron en agitación a temperatura ambiente por 30 minutos. Distintas cantidades de glutaraldehido se agregaron a la solución y la misma se trasvasó a una jeringa de polipropileno que sirvió de reactor. La reacción se dejó transcurrir a temperatura ambiente por 6 días. Transcurrido dicho tiempo, no se formó gel a pesar de realizar diversas variaciones sintéticas relacionadas con tiempo y temperatura de polimerización.

### Ch-GTMAC entrecruzado con genipina

Se evaluó la formación de redes poliméricas empleando 5%, 7%, y 10% de masa de entrecruzante en relación a la masa de Ch-GTMAC. Para todos los casos, el procedimiento seguido fue similar y se detalla a continuación.

Aproximadamente 250 mg de Ch-GTMAC se disolvieron en 3,5 mL de H<sub>2</sub>O destilada y se dejaron en agitación a temperatura ambiente por 30 minutos. Distintas cantidades de genipina se agregaron a la solución y la misma se trasvasó a una jeringa de polipropileno que sirvió de reactor. La reacción se dejó transcurrir a temperatura ambiente por 6 días. Transcurrido dicho tiempo, el gel presentaba una coloración azul intensa.

## Resultados y Discusión

Teniendo en cuenta la experiencia de trabajo previa, se propusieron dos vías sintéticas alternativas para la obtención de redes tridimensionales expandibles en medios acuosos, comúnmente denominadas hidrogeles o macrogeles. La opción desarrollada en este Capítulo consistió en el entrecruzamiento covalente de polímeros lineales, empleando polímeros y agentes entrecruzantes comerciales o sintetizados. Siguiendo esta metodología, se sintetizaron con éxito polímeros lineales como poli(IA) y Ch-GTMAC, y DAA como entrecruzante. La combinación de polímeros lineales y entrecruzantes permitió la obtención de redes poliméricas expandibles. A continuación se muestran los resultados más relevantes obtenidos para cada caso.

### Síntesis y caracterización de polímeros lineales

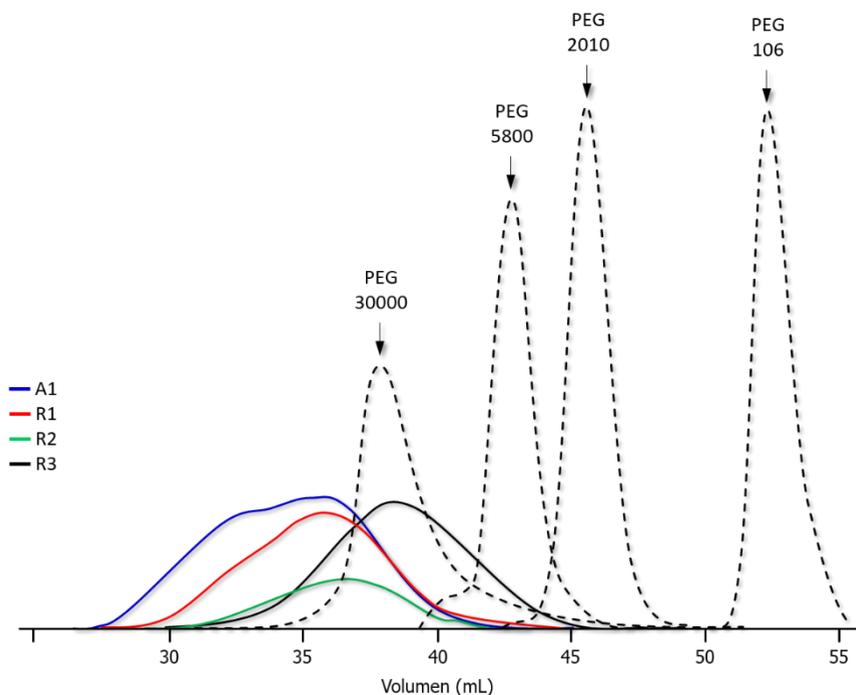
#### Poli(ácido itacónico) (*poli(IA)*)

La elección del monómero polimerizable IA se realizó considerando una serie de factores, entre los que se pueden destacar su biocompatibilidad, no toxicidad, origen natural, amplia disponibilidad comercial y bajo costo<sup>31</sup>.

La metodología de polimerización radicalaria se realizó siguiendo como referencia lo informado por Veličković y colaboradores<sup>32</sup>. El Esquema 3.1 muestra el procedimiento empleado.



moleculares certificadas (PEG 106, PEG 2010, PEG 5800 y PEG 30000). La Figura 3.1 muestra los cromatogramas obtenidos luego de la elución con la correspondiente fase móvil.



*Figura 3.1: cromatogramas obtenidos para las muestras de poli(IA) y estándares comerciales.*

A partir de los cromatogramas y del análisis de las distribuciones de masas molares, se obtuvieron los resultados para las masas molares en número ( $M_n$ ) y las masas molares en peso ( $M_w$ ) que se detallan en la Tabla 3.1.

*Tabla 3.1: valores de masas molares determinadas para las muestras de poli(IA)*

| Muestra       | $M_n$ | $M_w$  | PDI  |
|---------------|-------|--------|------|
| poli(IA) - A1 | 55370 | 150500 | 2,71 |
| poli(IA) - R1 | 43120 | 92960  | 2,15 |
| poli(IA) - R2 | 37610 | 69370  | 1,84 |
| poli(IA) - R3 | 16040 | 31890  | 1,98 |

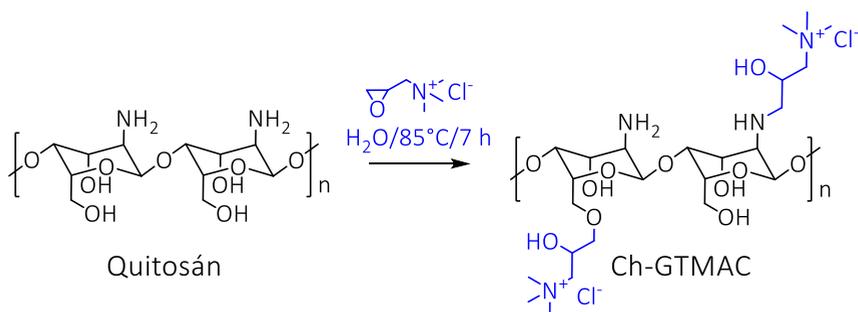
Los resultados confirmaron la obtención de cadenas poliméricas de poli(IA). En primer término, la síntesis de un polímero hidrofílico con grupos pendientes ionizables se logró con facilidad. A pesar de los rendimientos pobres a buenos, el polímero se caracterizó de manera eficaz. Si bien se logró obtener el polímero deseado, los valores de masas molares no resultaron suficientemente satisfactorios. En segunda instancia, se observó que todas las fracciones difieren en sus masas molares ( $M_n$  y  $M_w$ ) e índices de polidispersidad (PDI), dando como indicativo que el proceso de precipitación es sumamente dependiente de las condiciones. Si bien se realizó este proceso siguiendo la misma metodología, se supone que un leve cambio en los volúmenes del no-solvente empleado fue el responsable de los cambios encontrados en las distintas fracciones de polímero R1, R2 y R3. A la vez, un ligero incremento en los valores de masas hallados, pudo deberse al proceso de concentrado del solvente mediante destilación del mismo. El hecho de llevar el sistema a mayores temperaturas y prolongar el tiempo de reacción se planteó como causante de los valores encontrados.

De esta manera, el polímero lineal sintetizado en esta etapa se reservó para su utilización posterior como componente de una red polimérica expandible.

## Quitosán cuaternarizado (*Ch-GTMAC*)

La modificación de la estructura de Ch mediante la incorporación de una sal de amonio cuaternario como lo es GTMAC, se empleó a fin de lograr una mayor solubilidad del biopolímero en un amplio rango de valores de pH en solución acuosa, tal como se estudió con anterioridad en el Capítulo 1.

La reacción de cuaternarización tuvo lugar sobre los grupos nucleofílicos, amino e hidroxilo presentes en Ch, ocurriendo la apertura del epóxido, tal como se detalló en el Capítulo 1. El Esquema 3.2 muestra la vía sintética empleada.



*Esquema 3.2: condiciones de reacción entre Ch y GTMAC*

Luego de purificado el producto, el mismo se caracterizó por FT-IR y por RMN. Los espectros de FT-IR de Ch y de Ch-GTMAC se muestran en la Figura 3.2.

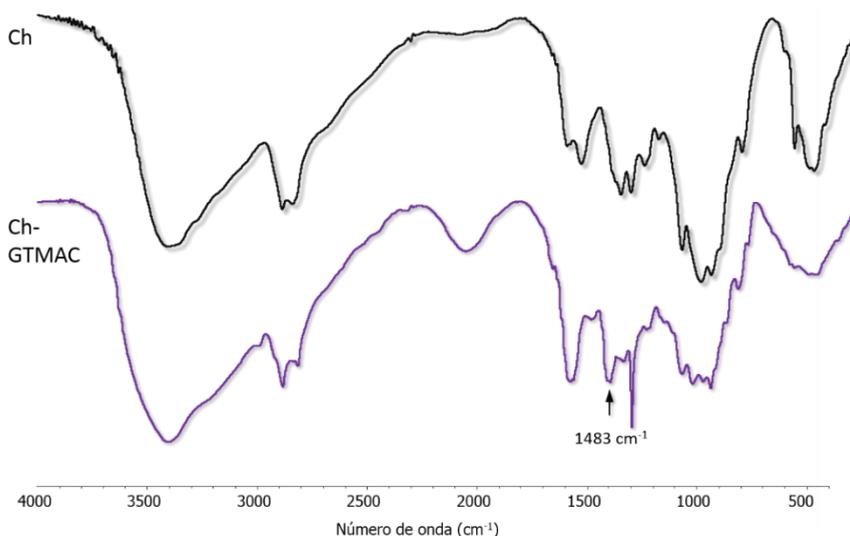


Figura 3.2: espectros de FT-IR de Ch y Ch-GTMAC.

Se observó que el producto de síntesis conserva las señales correspondientes a la estructura de Ch<sup>33</sup>, a la vez que se denotó la aparición de una nueva señal a 1483 cm<sup>-1</sup>, atribuida a la deformación del enlace C-H de los grupos metilo del amonio cuaternario introducido en el polímero<sup>34,35</sup>, tal como se discutió en el Capítulo 1.

Por su parte, el espectro de <sup>1</sup>H-RMN de Ch-GTMAC, mostró el patrón de señales propio de Ch, a la vez que se observó una nueva y prominente señal a 3,23 ppm, atribuida a los protones de los grupos metilo de GTMAC, en concordancia con lo observado por FT-IR. Además, las señales a 2,56, 2,80 y 3,42 ppm se asignaron a los protones de los grupos metileno internos, y la señal a 4,32 ppm se atribuyó al protón  $\alpha$  al grupo hidroxilo de GTMAC<sup>35,36</sup>. La Figura 3.3 muestra el espectro de <sup>1</sup>H-RMN de Ch y Ch-GTMAC.

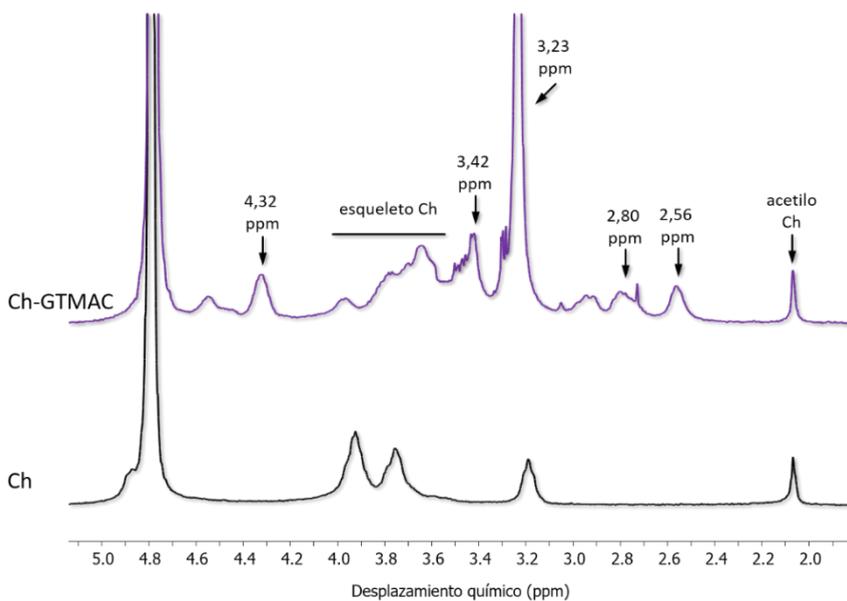
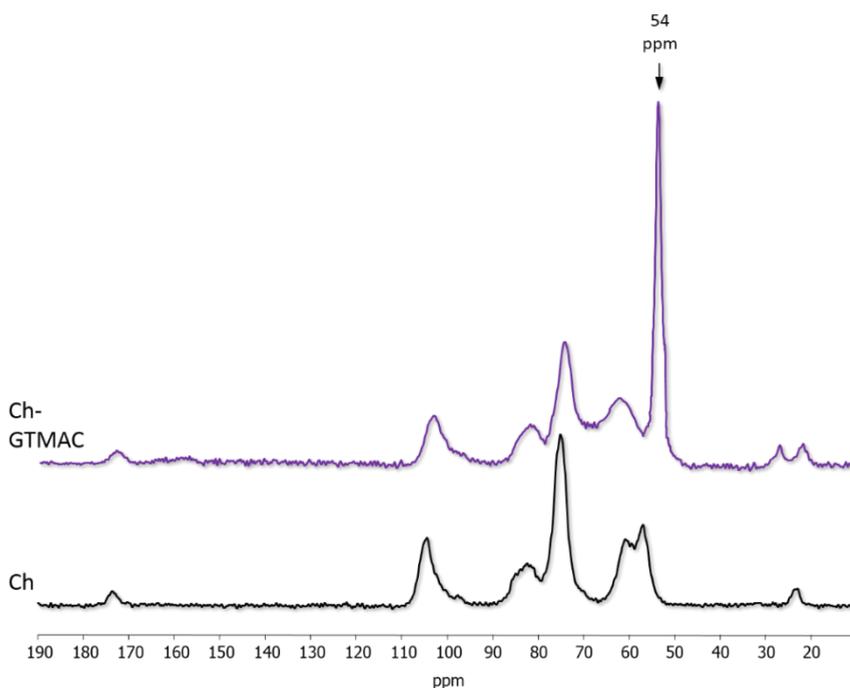


Figura 3.3: Espectros de  $^1\text{H}$ -RMN de Ch y Ch-GTMAC.

El resultado observado es similar al que surge luego de analizar el correspondiente espectro de CP-MAS- $^{13}\text{C}$ , que se presenta en la Figura 3.4, donde se evidenció la aparición de un pico intenso a 54 ppm, atribuido a los grupos metilo del amonio cuaternario de GTMAC<sup>36</sup>.



*Figura 3.4: Espectros de CP-MAS-<sup>13</sup>C de Ch y Ch-GTMAC.*

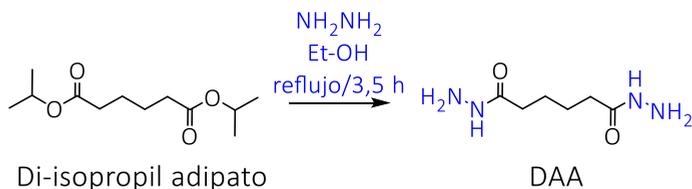
Los resultados obtenidos por diversas técnicas espectroscópicas confirmaron la obtención del polímero Ch-GTMAC, el cual presentó buena solubilidad en agua. Esto proporcionó una mejora en las características del biopolímero, ya que Ch nativo sólo es soluble en soluciones acuosas a pH menor a cinco. Así, el aumento de la solubilidad acuosa del polímero en un mayor intervalo de pH, manteniendo las propiedades beneficiosas del Ch, aumentó las potenciales aplicaciones del sistema Ch-GTMAC<sup>35,37</sup>.

## Síntesis y caracterización de agente entrecruzante

### Dihidrazida de ácido adípico (DAA)

En este punto, la síntesis de un entrecruzante se planteó a fin de obtener un producto apto para reaccionar con los grupos ácido carboxílico presentes en el polímero lineal poli(IA) o alginato de sodio. La elección de una molécula que contuviera dos o más grupos funcionales hidrazida tuvo lugar por la reactividad de éstos con los mencionados grupos o sus derivados<sup>38-40</sup>.

La síntesis del entrecruzante DAA se realizó a partir de di-isobutil adipato e hidracina, siguiendo procedimientos reportados<sup>41</sup> según se muestra en el Esquema 3.3.



*Esquema 3.3: condiciones de síntesis empleadas para la obtención de DAA.*

El ataque por parte de la hidracina al grupo carbonilo electrófilo, y la posterior eliminación del subproducto isobutanol, dio lugar a la formación del grupo hidrazida.

Una vez obtenido y purificado el DAA mediante recristalización con rendimientos buenos, el mismo se analizó por RMN a fin de caracterizarlo y determinar su pureza. La Figura 3.5 muestra los espectros de <sup>1</sup>H-RMN para el reactivo di-isobutil adipato y para el producto de síntesis DAA.

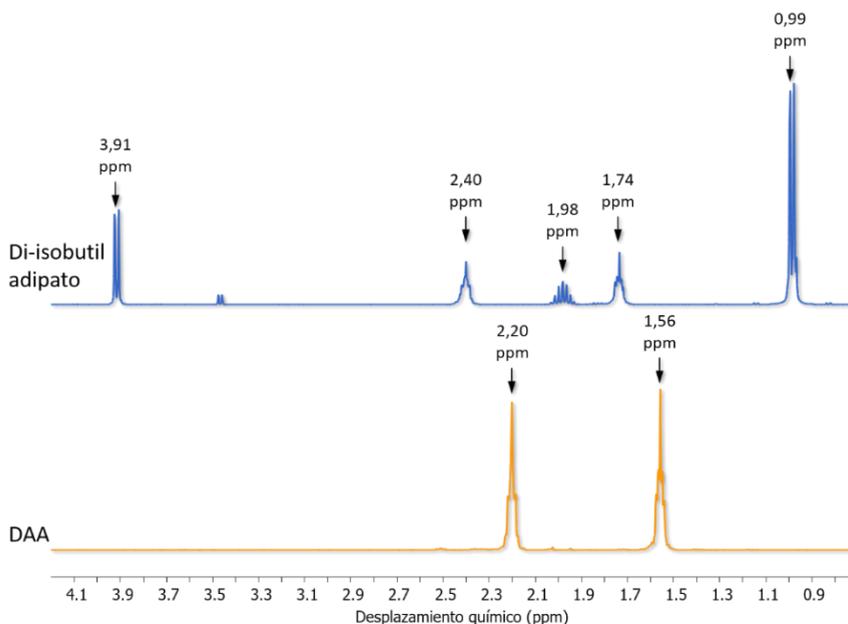


Figura 3.5: Espectros de <sup>1</sup>H-RMN de di-isobutil adipato y DAA.

En el espectro correspondiente a DAA se apreció la desaparición de las señales a 0,99; 1,98 y 3,91 ppm, pertenecientes a los grupos isobutilo, a la vez que en el producto se conservaron las señales correspondientes a los grupos metileno internos de la molécula a 2,20 y 1,56 ppm.

Los espectros de <sup>13</sup>C-RMN que se presentan en la Figura 3.6, mostraron igual indicio de desaparición de las señales de los grupos isobutilo a 19; 27 y 70 ppm, mientras que el carbono carbonílico de DAA está ligeramente desplazado a campos mayores como consecuencia del cambio en el entorno químico de la molécula resultante.

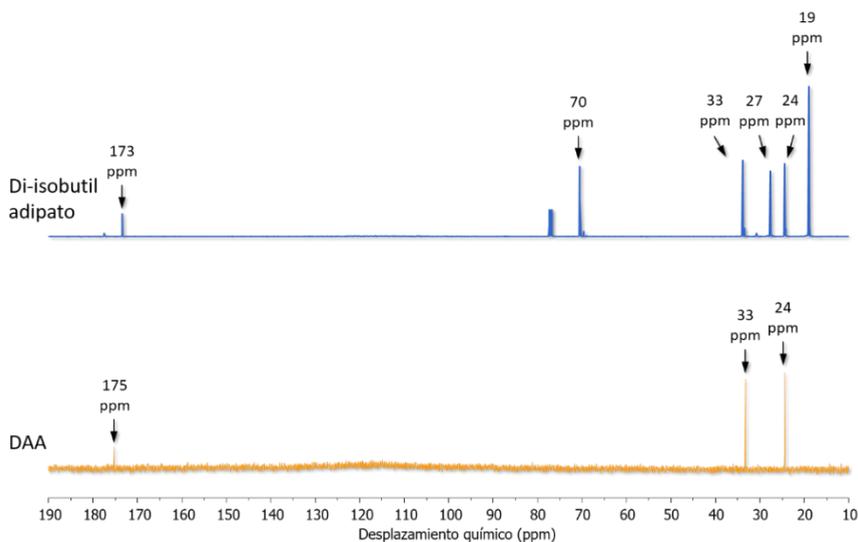


Figura 3.6: Espectros de  $^{13}\text{C}$ -RMN de di-isobutil adipato y DAA.

Además de confirmar la obtención del producto de interés, la evidencia espectroscópica demostró que el entrecruzante sintetizado fue aislado con gran pureza, ya que no se encontraron restos de los reactivos de partida. Es importante destacar la eficacia y sencillez de la reacción utilizada para convertir ésteres en hidracinas, para su uso como moléculas entrecruzantes para la síntesis de redes poliméricas expandibles.

### Preparación de hidrogeles a partir de polímeros lineales

En este punto, la formación de redes expandibles o hidrogeles, se planteó por la metodología de entrecruzamiento de cadenas poliméricas lineales. De esta manera, las siguientes combinaciones fueron propuestas a fin de evaluar los mejores resultados obtenidos. La Tabla 3.2 resume los reactivos empleados en cada caso y el resultado de la reacción de polimerización.

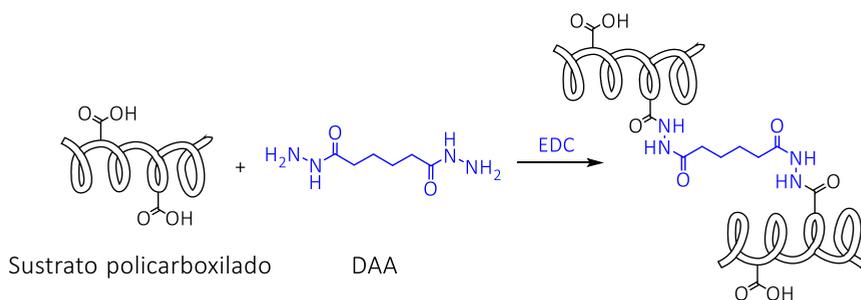
*Tabla 3.2: polímeros sintetizados a partir de entrecruzamiento de cadenas lineales.*

| Polímero lineal   | Entrecruzante  | Observaciones               |
|-------------------|----------------|-----------------------------|
| poli(IA)          | DAA            | geles de coloración verdosa |
| Alginato de sodio | DAA            | no formó gel                |
| Ch-GTMAC          | glutaraldehído | no formó gel                |
| Ch-GTMAC          | genipina       | geles de coloración azul    |

Para los cuatro casos estudiados, sólo las combinaciones poli(IA)-DAA y Ch-GTMAC-Genipina dieron como resultado la obtención de geles suaves tipo barra. Para los casos de Alginato-DAA y Ch-GTMAC-glutaraldehído, luego del tiempo de reacción se obtuvieron soluciones viscosas en lugar de polímeros en forma de barra, que dadas sus propiedades mecánicamente inestables, no pudieron ser manipulados, por lo que se decidió descartarlos y sin realizar estudios de caracterización.

### Poli(IA) entrecruzado con DAA

Para el caso de poli(IA)-DAA, dado que se obtuvieron geles, se evaluó el efecto de la concentración de DAA. El Esquema 3.4 muestra la reacción que tuvo lugar, representando a poli(IA) en forma de sustrato policarboxilado.



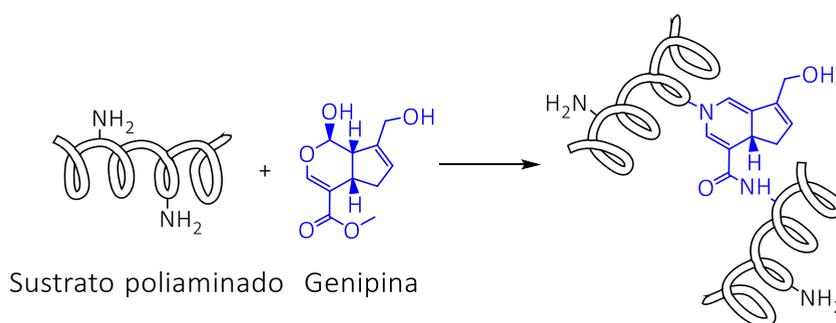
*Esquema 3.4: reacción de entrecruzamiento entre poli(IA) y DAA.*

Realizando un análisis sistemático, se evaluó 12%, 15%, 20% y 25% P/P de DAA como agente entrecruzante. Se observó que las características de los geles obtenidos fueron dependientes de estas concentraciones. Si bien se obtuvieron geles en la totalidad de los casos analizados, los materiales logrados con concentraciones de 12% y 15% P/P de DAA, resultaron con dificultad para su manipulación, notándose una fácil degradación de los mismos. Para los geles preparados con 20% y 25% P/P de DAA, se logró seccionar las barras de producto obtenido en discos para luego realizar el proceso de lavado. Luego del mismo, las muestras se secaron pero no pudieron ser re-hidratadas en su totalidad. Si bien no se realizaron medidas cuantitativas de índice de hinchamiento, esto fue evidenciado por un escaso cambio de volumen observado en los discos recuperados.

Lamentablemente, los resultados encontrados no fueron los esperados para su uso como redes expandibles, por lo que se decidió descartarlos para su uso posterior.

## Ch-GTMAC entrecruzado con genipina

Los resultados presentados con anterioridad fueron similares para los obtenidos para los sistemas Ch-GTMAC-Genipina. En la totalidad de los casos, la presencia de la coloración azul fue indicio de la reacción de entrecruzamiento. El mecanismo de reacción ha sido discutido previamente por diversos autores<sup>42</sup>. El Esquema 3.5 plantea la vía de reacción entre genipina y moléculas que contienen grupos amino libres, en este caso un polímero o sustrato poliaminado.



*Esquema 3.5: reacción entre genipina y moléculas con grupos amino.*

Esta reacción da como resultado la formación del cromóforo causante de la coloración azul intensa, indicando la efectividad de la reacción<sup>43</sup>. Dicha coloración fue observada en los casos discutidos en esta sección.

Si bien se logró el entrecruzamiento de las cadenas poliméricas con grupos amino libres, el producto presentó alta viscosidad, por lo que no fue posible la obtención de una barra de gel apto para su posterior procesamiento. No obstante, y para analizar de forma cualitativa sus propiedades, estas soluciones viscosas se dejaron secar sin lavados previos sobre una placa de polipropileno, lo que formó un film polimérico. Al intentar hidratar estas películas, las mismas no presentaron cambios

en su volumen, dando indicio de que no son re-expandibles en solución acuosa. En este caso también se decidió descartar los materiales para su uso como red expandible.

## Conclusiones Parciales

En esta sección del trabajo, se presentó y discutió la obtención y caracterización de dos polímeros lineales nuevos en el grupo de trabajo (poli(IA) y Ch-GTMAC), y de un agente entrecruzante (DAA). Estas metodologías sintéticas fueron puestas a punto, lográndose una secuencia sencilla de pasos, que dan lugar a reacciones eficaces y reproducibles.

Las redes expandibles que se intentaban obtener no fueron logradas, por lo que no se profundizó en el estudio de las mismas. No obstante, fue posible optimizar condiciones sintéticas adecuadas para el entrecruzamiento de poli(IA), escalable a otros polímeros carboxilados análogos, que podría tener potenciales aplicaciones a futuro en diversas áreas.

Esta sección dio lugar al replanteo de la metodología sintética para lograr redes expandibles, lo que derivó en el estudio de hidrogeles generados a partir de síntesis en un solo paso, tal como se desarrolla en el siguiente Capítulo.



## ***Capítulo 4***

---

***Redes expandibles obtenidas a partir de monómeros y entrecruzantes vinílicos***

## Planteo Experimental

En este Capítulo se propuso emplear una metodología alternativa para abordar la obtención de redes poliméricas en forma de barra. Para ello se planteó obtener redes expandibles a partir de una metodología en un solo paso o “*one pot*”, utilizando monómeros y entrecruzantes vinílicos.

Dada la amplia variedad de posibles monómeros a emplear, el trabajo se dividió en dos categorías principales: redes expandibles basadas en HEMA, y redes expandibles basadas en NiPAm. En estos casos, el trabajo se orientó a la obtención de hidrogeles del tipo inteligentes mediante el uso de monómeros con grupos funcionales de interés, que respondan a cambios del medio circundante. Además, y habiéndose sintetizado con éxito el monómero dendrítico ABC detallado en el Capítulo 2, se abordó también la obtención de redes expandibles dendronizadas de inteligencia dual, a partir de los monómeros NiPAm y ABC.

## Métodos

### Hidrogeles basados en HEMA o NiPAm

Tanto para los casos de geles basados en HEMA o en NiPAm, se estudiaron los productos obtenidos al variar la composición monomérica, identidad y concentración de entrecruzante e iniciador. El procedimiento empleado para su obtención fue similar en todos los casos y se detalla a continuación de manera simplificada, empleando las proporciones que se detallan en la Tabla 4.1 en la sección de resultados y discusión.

En un vial, un total de 4,3 mmol de monómeros se disolvieron en 3 mL de agua destilada a temperatura ambiente. El entrecruzante fue agregado

y el sistema se homogeneizó por 5 minutos. Transcurrido dicho periodo, se adicionó APS al sistema y se burbujeó con N<sub>2</sub> por un periodo de entre 5 a 10 minutos. Luego, se llevó a un baño de agua/hielo por aproximadamente 5 minutos. Una vez frío se adicionó TEMED en una concentración equimolar a APS y se trasvasó rápidamente a una jeringa de polipropileno que sirvió como reactor. Los sistemas se dejaron gelificar por un periodo de 48 a 72 horas a temperatura ambiente. Transcurrido dicho tiempo, el gel formado se cortó en discos de 2 mm de espesor y se lavaron en H<sub>2</sub>O destilada por 4 días, realizando cambio del solvente de lavado cada 24 horas. Luego de los lavados, los discos de polímero se secaron a 25°C hasta masa constante.

## Hidrogeles dendronizados basados en NiPAm y ABC

Se evaluó la formación de redes poliméricas empleando 2%, 5% y 10% de ABC en relación a la cantidad total de monómero utilizado. Para todos los casos, el procedimiento seguido fue similar y se detalla a continuación.

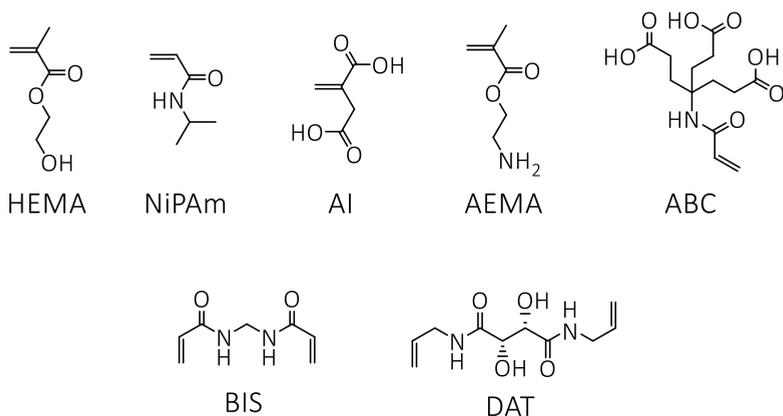
En un vial, un total de 1,5 mmol de monómeros se disolvieron en 3 mL de agua destilada, con 5% mol de BIS y 5% mol de APS (porcentajes calculados en referencia al total de monómeros). Se burbujeó con N<sub>2</sub> por un periodo de entre 5 a 10 minutos y luego se llevó a un baño de agua/hielo por aproximadamente 5 minutos. Una vez frío se adicionó TEMED en una concentración equimolar a APS y se trasvasó rápidamente a una jeringa de polipropileno que sirvió de reactor. Los sistemas se dejaron gelificar por un periodo de 48 horas a temperatura ambiente. Transcurrido dicho tiempo, el gel formado se cortó en discos de 2 mm de espesor y se lavaron en H<sub>2</sub>O destilada por 4 días, realizando cambio del solvente de lavado cada 24 horas. Luego de

los lavados, los discos de polímeros se secaron a 25°C hasta masa constante.

## Resultados y Discusión

El empleo de polimerización por adición a dobles enlaces resultó en una variante útil para la obtención de polímeros entrecruzados. En la totalidad de los casos analizados, el sistema iniciador empleado fue la cupla redox APS/TEMED. Tal como como se detalló en el Capítulo 2, la amina terciaria (TEMED en este caso) es la responsable de activar la descomposición de APS para dar radicales sulfato ( $\text{SO}_4^{\cdot-}$ ), responsables del proceso de iniciación de la polimerización.

La Figura 4.1 detalla la estructura química de los monómeros y entrecruzantes que se utilizaron para la obtención de las redes expandibles.



*Figura 4.1: estructura química de monómeros (HEMA, NiPAm, AI, AEMA y ABC) y entrecruzantes (BIS y DAT) empleados.*

La elección de los monómeros HEMA y NiPAm como base para la obtención de hidrogeles se realizó teniendo en cuenta que los geles

derivados de HEMA son altamente biocompatibles<sup>28,30</sup>, mientras que los correspondientes de NiPAm aportan también conocida termosensibilidad<sup>18-21</sup>.

Dada la variedad de geles obtenidos, los mismos se agruparon en dos categorías diferentes: geles basados en HEMA y geles basados en NiPAm.

## Hidrogeles basados en HEMA

En esta sección se presentan los resultados para los hidrogeles homopoliméricos de HEMA empleando BIS o DAT como entrecruzante, hidrogeles copoliméricos de HEMA-co-AI y HEMA-co-AEMA. La Tabla 4.1 resume los materiales preparados y sus composiciones.

Tabla 4.1: composiciones de los sistemas basados en HEMA.

| Denominación              | Monómeros |            | Entrecruzante<br>(% mol)* | Iniciador<br>(% mol)* |
|---------------------------|-----------|------------|---------------------------|-----------------------|
|                           | HEMA      | Comonomero |                           |                       |
| <b>Homopolímeros</b>      |           |            |                           |                       |
| HEMA 100%                 | 100 %     | 0 %        | 0,5 % DAT                 | 0,25 % APS            |
|                           |           |            | 0,5 % BIS                 | 0,25 % APS            |
|                           |           |            | 1 % BIS                   | 0,25 % APS            |
|                           |           |            |                           | 0,5 % APS             |
|                           |           |            |                           | 3 % APS               |
|                           |           |            | 2 % BIS                   | 5 % APS               |
| <b>Copolímeros con AI</b> |           |            |                           |                       |
| HEMA-AI 5%                | 95 %      | 5 %        | 0,5 % DAT                 | 0,25 % APS            |
|                           |           |            | 1 % BIS                   | 3 % APS               |
|                           |           |            | 2% BIS                    | 5% APS                |
| HEMA-AI 10%               | 90 %      | 10 %       | 0,5 % DAT                 | 0,25 % APS            |
|                           |           |            | 0,5 % BIS                 | 0,25 % APS            |
|                           |           |            |                           | 0,5 % APS             |
|                           |           |            | 1 % BIS                   | 0,5 % APS             |
|                           |           |            | 3 % APS                   |                       |

|                             |      |      |           |            |
|-----------------------------|------|------|-----------|------------|
|                             |      |      | 2 % BIS   | 5 % APS    |
| HEMA-<br>AI 15%             | 85 % | 15 % | 0,5 % DAT | 0,25 % APS |
|                             |      |      | 2 % BIS   | 5 % APS    |
| <b>Copolímeros con AEMA</b> |      |      |           |            |
| HEMA-<br>AEMA 5%            | 95 % | 5 %  | 0,5 % DAT | 0,25 % APS |
|                             |      |      | 2% BIS    | 5% APS     |
| HEMA-<br>AEMA 10%           | 90 % | 10 % | 0,5 % DAT | 0,25 % APS |
|                             |      |      | 2% BIS    | 5% APS     |
| HEMA-<br>AEMA 15%           | 85 % | 15 % | 0,5 % DAT | 0,25 % APS |
|                             |      |      | 2% BIS    | 5% APS     |

\* referido al total de monómeros

La discusión de los resultados obtenidos en cada caso se basó principalmente en las propiedades físicas cualitativas observables de los materiales obtenidos. En este sentido, se descartaron los productos que presentaron falta de homogeneidad estructural o que resultaron viscosos.

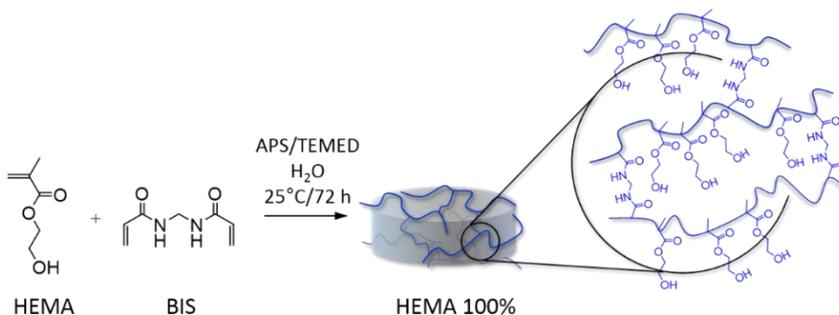
Tanto para los sistemas homopoliméricos, como para los copoliméricos, se variaron la cantidad e identidad del entrecruzante, como así también la proporción de iniciador. Se observó que los geles entrecruzados con BIS, gelificaron en menor tiempo en comparación a los análogos con DAT. Esto puede deberse posiblemente a la menor reactividad de DAT en comparación a BIS<sup>44</sup>. Si bien los geles entrecruzados con DAT no fueron utilizados posteriormente por sus malas propiedades físicas o inhomogeneidades estructurales, hay que recalcar que esta molécula es escasamente utilizada como entrecruzante, por lo que los polímeros obtenidos fueron altamente novedosos, creando un precedente de trabajo en el grupo de investigación y ampliando su potencial interés. A la vez, una baja proporción de APS, genera la consecuente baja concentración de radicales iniciadores de la reacción, los que podrían ser fácilmente consumidos por el oxígeno disuelto en la solución,

disminuyendo la proporción de cadenas poliméricas crecientes en el seno de la reacción.

Los polímeros sintetizados empleando 2% mol de BIS como entrecruzante y 5% de mol APS como iniciador fueron los que mejores resultados presentaron. De esta, los materiales HEMA 100%, HEMA-AI 5%, HEMA-AI 10%, HEMA-AI 15%, HEMA-AEMA 5%, HEMA-AEMA 10% y HEMA-AEMA 15% fueron seleccionados para análisis posteriores debido a que presentaron óptimas propiedades en cuanto a manejabilidad.

### Homopolímero HEMA 100%

Tal como se mostró en la sección de antecedentes y generalidades de este capítulo, los polímeros de HEMA han sido y continúan siendo altamente estudiados<sup>30</sup>. Es de destacar la sencilla preparación y amplia reproducibilidad que reviste la obtención de estos materiales. En nuestro caso, las mejores condiciones evaluadas corresponden al empleo de BIS como agente entrecruzante, en una proporción de 2% mol en relación al total de moles de monómero utilizado, y un 5% mol de iniciador radicalario. Si bien se estudiaron diversas composiciones, tal como se dijo anteriormente, esta fue la seleccionada ya que brindó la posibilidad de obtener geles homogéneos y de fácil y rápida gelación. El Esquema 4.1 muestra una representación del material obtenido.



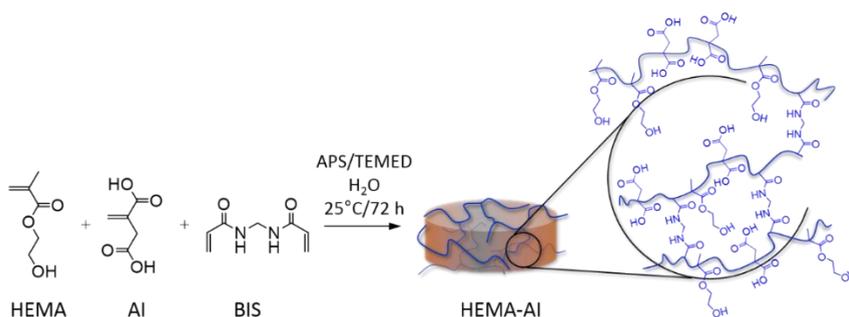
*Esquema 4.1: formación de hidrogel HEMA 100%.*

El polímero obtenido sirvió como base para poner a punto posteriormente la preparación de redes copoliméricas, de poli(HEMA-co-AI) y poli(HEMA-co-AEMA), tal como se muestra a continuación.

### Copolímeros HEMA-AI y HEMA-AEMA

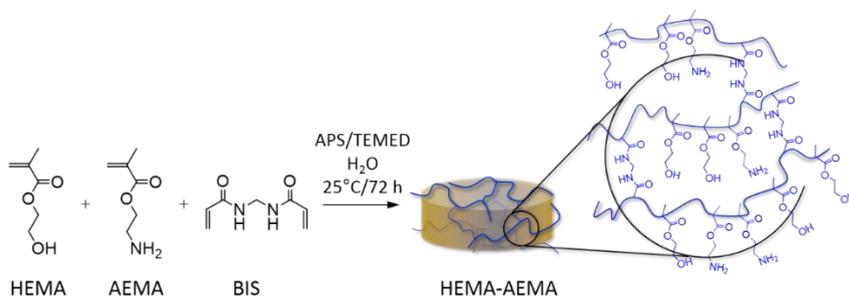
Utilizando como punto de partida las proporciones de 2% mol de entrecruzante y 5% mol de iniciador, y evaluadas para el homopolímero HEMA 100%, se prosiguió con la síntesis de copolímeros de HEMA. Esta serie de materiales incorporaron moléculas de AI o AEMA. En este sentido, el porcentaje de comonómero incorporado fue de 5%, 10% y 15% en ambos casos, para dar los materiales correspondientes.

Para la serie HEMA-AI, la incorporación de monómeros con grupos ácido carboxílico radicó en la oportunidad de obtener redes sensibles al pH, debido a la deprotonación de los grupos ácido en medio básico. En este sentido, la repulsión de cargas semejantes en las cadenas del polímero genera un mayor hinchamiento o expansión de la matriz polimérica, lo que desencadena un aumento de tamaño del material. El Esquema 4.2 muestra el producto obtenido para la serie copolimérica HEMA-AI.



*Esquema 4.2: formación de hidrogel copolimérico HEMA-AI.*

Por su parte, en la serie HEMA-AEMA, la presencia de grupos amino libres también genera una respuesta al pH del medio. En este caso, un medio ácido logra la protonación del grupo amino y la consiguiente repulsión de cadenas, de manera análoga a lo explicado para los grupos carboxilato, tal como se mostró en la Figura II.III de la sección de Antecedentes y Generalidades. La estructura del copolímero HEMA-AEMA se representa en el Esquema 4.3.



*Esquema 4.3: formación de hidrogel copolimérico HEMA-AEMA.*

Los macrogeles copoliméricos basados en HEMA, se analizaron mediante el cálculo de los índices de hinchamiento  $q_w$  a diferentes valores de pH, según la siguiente ecuación.

$$q_w = \frac{m_{gel\ hinchado} - m_{xerogel}}{m_{xerogel}}$$

En donde  $m_{gel\ hinchado}$  y  $m_{xerogel}$  representan la masa del gel en estado de equilibrio hidrodinámico y seco, respectivamente. Este parámetro simple de calcular, indica cuantas veces el material puede captar su propio peso en el solvente de hinchamiento.

La Tabla 4.2 muestra los valores de  $q_w$  tomados a diferentes valores de pH y a temperatura ambiente para los diferentes sistemas basados en HEMA.

Tabla 4.2: *índices de hinchamiento para los geles basados en HEMA.*

| Muestra       | $q_w$         |                |              |
|---------------|---------------|----------------|--------------|
|               | pH: 3,0       | pH: 7,4        | pH: 12,0     |
| HEMA 100%     | (4,60 ± 0,06) | (5,2 ± 0,2)    | (6,6 ± 0,3)  |
| HEMA-AI 5%    | (5,0 ± 0,3)   | (7,27 ± 0,05)  | (7,8 ± 0,2)  |
| HEMA-AI 10%   | (5,04 ± 0,03) | (9,8 ± 0,4)    | (10,6 ± 0,1) |
| HEMA-AI 15%   | (5,0 ± 0,5)   | (12,6 ± 0,8)   | (13,0 ± 0,1) |
| HEMA-AEMA 5%  | (6,1 ± 0,2)   | (5,3 ± 0,2)    | (4,9 ± 0,2)  |
| HEMA-AEMA 10% | (19,0 ± 0,3)  | (12,33 ± 0,05) | (5,9 ± 0,4)  |
| HEMA-AEMA 15% | (25,6 ± 0,3)  | (16,4 ± 0,2)   | (4,3 ± 0,1)  |

Los resultados mostrados en la Tabla 4.2 se graficaron para una mejor visualización de los mismos, tal como muestra la Figura 4.2.

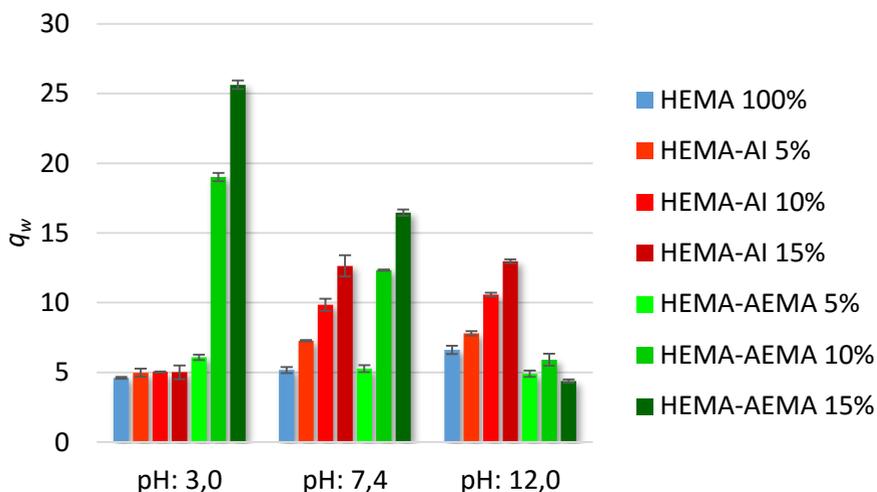


Figura 4.2: índices de hinchamiento para los geles basados en HEMA.

Los resultados confirmaron que los materiales sintetizados poseen una clara respuesta al pH del medio. Se corroboró que la red HEMA 100% no presentó un marcado comportamiento dependiente con las características ácido-base de la solución en la que se encuentra. Aun así, el ligero cambio encontrado en los índices de hinchamiento a diferentes pH, fue atribuido a la ionización de los grupos hidroxilo, tal como ha sido reportado con anterioridad<sup>23,45</sup>.

La respuesta de los copolímeros a diferentes pH se observó con claridad. Para los correspondientes a la serie sintetizada con AI, a pH por encima de los valores de pKa del monómero ácido (pKa= 3,85 y 5,45)<sup>46</sup>, se genera la deprotonación correspondiente, originando grupos carboxilato en la red polimérica. Contrariamente, la presencia de AEMA, desencadena una respuesta a valores de pH por debajo del pKa del monómero básico (pKa= 7,6)<sup>47</sup>, en donde el grupo amino se protona para dar el amonio correspondiente. Tal como se mencionó, en cada caso, la presencia de monómeros ionizados genera la repulsión de las cadenas copoliméricas,

dando lugar a la expansión de la red y el consiguiente aumento de los valores de  $q_w$  en cada caso, dado por el mayor ingreso de solvente de hinchamiento en los intersticios del material. De esta manera, los materiales que contienen AI, se mostraron con hinchamientos elevados a valores de pH 7,4 y 12, ambos por encima de los pKa de los grupos ácido del monómero, mientras que a pH 3 tuvieron un comportamiento similar al material HEMA 100% dada la ausencia de carga en la red. Análogamente, pero mostrando un comportamiento inverso, los sistemas que incorporaron AEMA no mostraron cambios significativos en su hinchamiento a valores de pH 12, donde el grupo amino se encuentra sin carga, mientras que a valores de pH de 7,4 y 3, la protonación de este grupo desencadenó la correspondiente expansión de la red polimérica. A su vez, en ambos materiales con respuesta a la acidez o basicidad del medio, se corroboró la correlación existente entre la cantidad de monómero pH sensible incorporado en la red y la magnitud de la respuesta presentada.

Estos resultados dieron un indicio cualitativo e indirecto de la presencia de los correspondientes comonomeros en la estructura de la red polimérica, hecho que no pudo ser verificado por FT-IR dada la gran superposición de señales en los correspondientes espectros adquiridos, y no mostrados en esta sección del trabajo.

Como característica importante a destacar de estos materiales, es que una vez llevados a estado de xerogel, no regresan al estado de gel hinchado. En este sentido se evaluaron sin éxito soluciones acuosas a diferentes valores de pH como así también a diferentes temperaturas. Si bien la matriz polimérica es altamente hidrofílica, las fuertes atracciones e interacciones puente hidrógeno creados al llevarlos a estado seco, y que son características de los materiales basados en HEMA, reducen la capacidad de penetración de las moléculas de agua al interior de la red, por lo que las mismas no se re-expanden.

## Hidrogeles basados en NiPAm

### Homopolímero NiPAm 100% y copolímeros NiPAm-ABC

El principal motivo que determinó la utilización del monómero NiPAm fue la extraordinaria propiedad del mismo de generar polímeros termosensibles. Tal como se mencionó en la sección de antecedentes y generalidades de este capítulo, el balance hidrofílico-hidrofóbico que se establece entre las cadenas de poli(NiPAm) y el solvente de hinchamiento es el responsable de la aparición de una temperatura de transición de fase entre los 32-35°C<sup>18-21</sup>.

De la misma manera que se modificaron variables sintéticas en el caso de los hidrogeles basados en HEMA, para este caso se realizó el mismo procedimiento para lograr encontrar las propiedades óptimas de los polímeros. Tal como puede observarse en la Tabla 4.3, se evaluó la incorporación de un comonómero, se varió la proporción e identidad de entrecruzante y la cantidad de iniciador.

Tabla 4.3: composiciones de los sistemas basados en NiPAm.

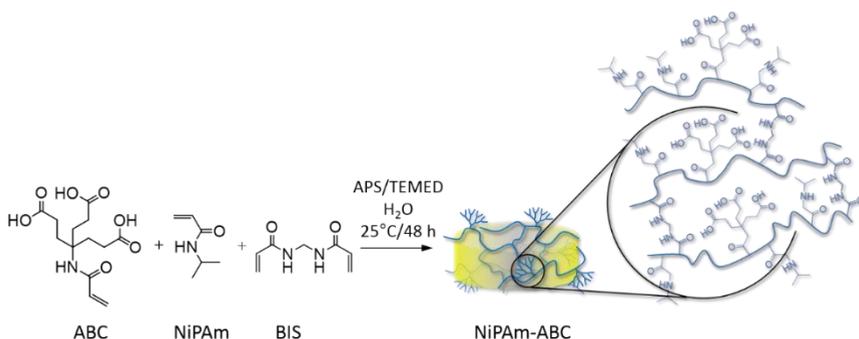
| Denominación               | Monómeros |     | Entrecruzante<br>(% mol)* | Iniciador<br>(% mol)* |
|----------------------------|-----------|-----|---------------------------|-----------------------|
|                            | NiPAm     | ABC |                           |                       |
| <b>Homopolímeros</b>       |           |     |                           |                       |
| NiPAm 100%                 | 100 %     | 0 % | 5 % DAT                   | 0,25 % APS            |
|                            |           |     | 1 % DAT                   | 2 % APS               |
|                            |           |     | 2 % DAT                   | 2 % APS               |
|                            |           |     | 3 % DAT                   | 2 % APS               |
|                            |           |     | 4 % DAT                   | 2 % APS               |
|                            |           |     | 1 % BIS                   | 2 % APS               |
|                            |           |     | 3 % BIS                   | 2 % APS               |
|                            |           |     | 4 % BIS                   | 5 % APS               |
| <b>Copolímeros con ABC</b> |           |     |                           |                       |
| NiPAm-ABC 2%               | 98 %      | 2 % | 3 % BIS                   | 2 % APS               |
|                            |           |     | 4 % BIS                   | 5 % APS               |

|               |      |     |         |         |
|---------------|------|-----|---------|---------|
| NiPAm-ABC 5%  | 95 % | 5 % | 4 % BIS | 5 % APS |
| NiPAm-ABC 10% | 90 % | 10% | 4 % BIS | 5 % APS |

\* referido al total de monómeros

Al igual que para el caso de los hidrogeles basados en HEMA, la selección de los materiales se basó en aquellos geles que presentaron mejores propiedades observables y que fueran de fácil manipulación. La incorporación del monómero dendrítico ABC, presentado en el Capítulo 2, se estudió de manera sistemática variando la proporción monomérica en los geles. En este sentido, los geles NiPAm 100%, NiPAm-ABC 2%, NiPAm-ABC 5% y NiPAm-ABC 10%, fueron sintetizados empleando 4% mol BIS como agente entrecruzante y 5% mol APS como iniciador.

Los copolímeros obtenidos en esta instancia, incorporaron un monómero que confiere respuesta a los cambios de temperatura, y un monómero dendrítico que otorga respuesta a los cambios de pH. El Esquema 4.4 muestra los componentes de la red.



Esquema 4.4: formación de hidrogel copolimérico NiPAm-ABC.

La importancia de la presencia de ABC radica en la extensión del concepto dendrítico a toda la matriz polimérica<sup>48</sup>. De esta manera, se logró incorporar la multifuncionalidad aportada por los grupos ácido provenientes de la periferia del dendrón. Este hecho, además de incorporar características multivalentes al material, también modifica su comportamiento frente a estímulos del medio originando una respuesta adicional al pH.

La Figura 4.2 muestra los espectros de FT-IR obtenidos para los materiales seleccionados.

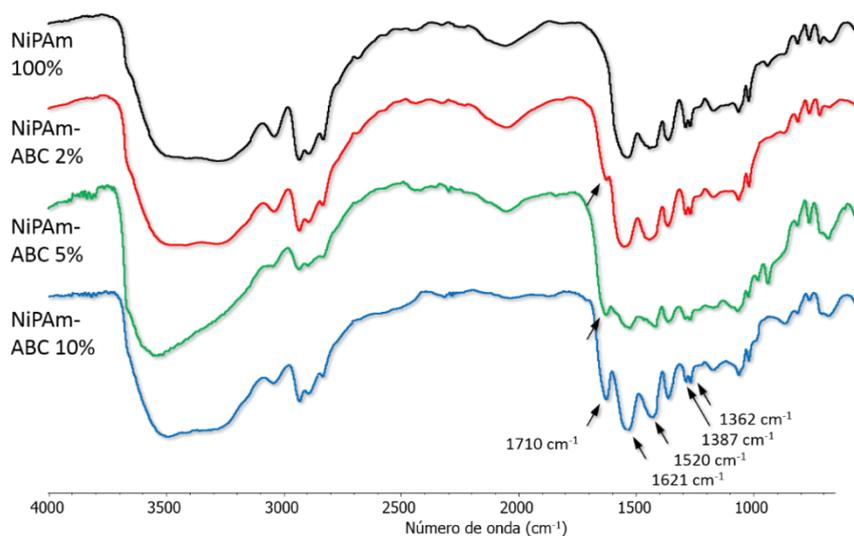


Figura 4.2: espectros FT-IR de NiPAm 100% y copolímeros de NiPAm-co-ABC.

NiPAm 100% presenta las señales características en su espectro. Las bandas Amida I y Amida II se observaron a 1621 cm<sup>-1</sup> y 1520 cm<sup>-1</sup>, mientras

que las señales a 1362 y 1387  $\text{cm}^{-1}$  fueron asignadas a la flexión del enlace C-H de los grupos metilo del isopropilo<sup>21,23</sup>.

Por su parte, los espectros de los copolímeros mostraron la aparición de una nueva banda a 1710  $\text{cm}^{-1}$ , que se atribuyó al estiramiento del enlace C=O de los grupos ácido carboxílico de ABC. A su vez, pudo correlacionarse la intensidad relativa de esta banda con la proporción de monómero dendrítico presente en el hidrogel.

Una vez caracterizados los productos obtenidos, se procedió a realizar la determinación de los  $q_w$ , tal como se realizó para la serie basada en HEMA. En este caso, la presencia de moléculas de NiPAm y su conocida termosensibilidad, dio lugar al estudio de  $q_w$  a diferentes temperaturas, por debajo y por encima de la temperatura de transición de fase teórica del polímero. La Tabla 4.3 muestra los valores obtenidos para las muestras NiPAm 100%, NiPAm-ABC 2% y NiPAm-ABC 5%, medidos a diferentes valores de pH, a 20°C y 60°C, por debajo y por encima de la temperatura de transición de fase, respectivamente. Dada la fragilidad presentada por NiPAm-ABC 10%, no fue posible recuperar de manera adecuada el polímero hinchado, por lo que las determinaciones de  $q_w$  para este material no pudieron llevarse a cabo.

Tabla 4.3: índices de hinchamiento para los geles basados en NiPAm.

| Muestra          | $q_w$          |                 |                |                 |                |                 |
|------------------|----------------|-----------------|----------------|-----------------|----------------|-----------------|
|                  | pH: 3,0        |                 | pH: 7,4        |                 | pH: 12,0       |                 |
|                  | 20°C           | 60°C            | 20°C           | 60°C            | 20°C           | 60°C            |
| NiPAm 100%       | (18,9<br>±0,4) | (0,71<br>±0,06) | (19,1<br>±0,3) | (0,81<br>±0,03) | (18,8<br>±0,4) | (0,75<br>±0,05) |
| NiPAm- ABC<br>2% | (15,2<br>±0,6) | (0,73<br>±0,01) | (25,7<br>±0,6) | (13,4<br>±0,8)  | (26,3<br>±0,3) | (7,52<br>±0,05) |
| NiPAm- ABC<br>5% | (11,1<br>±0,3) | (0,49<br>±0,09) | (39<br>±3)     | (29<br>±2)      | (41,3<br>±0,8) | (32,1<br>±0,4)  |

Para una mejor y más fácil comprensión de los datos, los mismos se graficaron y se muestran la Figura 4.3.

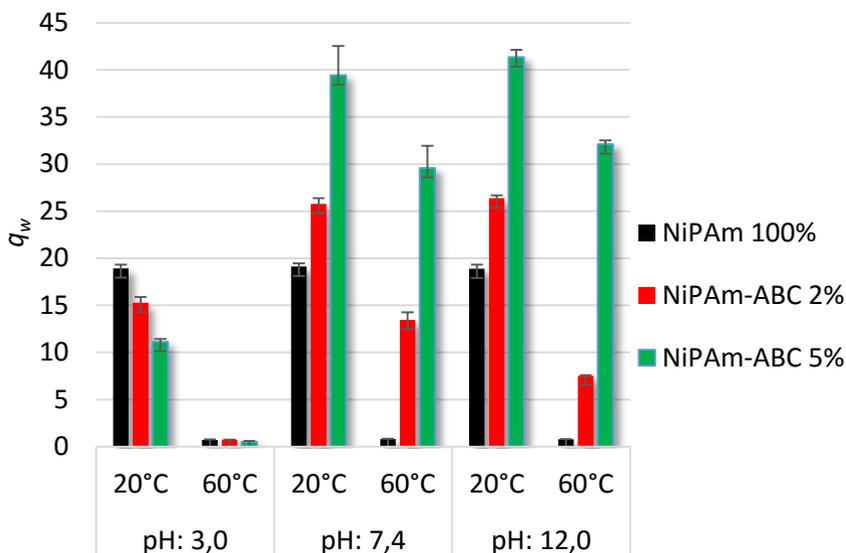


Figura 4.3: índices de hinchamiento para los geles basados en NiPAm, en función de temperatura y pH.

La presencia de moléculas de NiPAm en los polímeros analizados confiere respuesta frente a la temperatura del medio circundante. Es así que para todos los materiales analizados se observó un cambio en los  $q_w$  determinados a diferentes temperaturas.

Para el caso de NiPAm 100%, los valores de hinchamiento medidos no fueron dependientes del pH de la solución, esto se debe a que el hidrogel no posee grupos ionizables. En este sentido, los materiales que tienen incorporado el monómero dendrítico con grupos ácido con capacidad de deprotonación, presentaron un comportamiento

dual, tanto frente al cambio de temperatura como de pH del medio. Los copolímeros NiPAm-ABC mostraron este comportamiento, observándose que a pH bajos, donde los grupos ácido se encontraron protonados, los valores de  $q_w$  hallados fueron del orden a los encontrados para el caso del homopolímero.

La disminución observada en los valores  $q_w$  a 20°C y pH 3, se atribuyó a la presencia de las moléculas dendríticas. En este sentido, los puentes hidrógenos generados entre estas moléculas son los responsables de rigidizar o generar la interacción de cadenas, disminuyendo así el valor de hinchamiento medido.

El aumento de la basicidad del medio fue el responsable de la deprotonación de los grupos ácido, y la consiguiente expansión de la red por repulsiones electrostáticas. Por este motivo, los valores de  $q_w$  a pH 7,4 y 12 fueron mayores a los determinados a pH 3, a la vez, la mayor proporción de ABC en el copolímero aumentó la presencia de cargas y el consiguiente hinchamiento. La mínima diferencia encontrada en los índices de hinchamiento entre pH 7,4 y 12 se debió justamente a que el pKa estimado por potenciometría para ABC es cercano a 5<sup>49</sup>, siendo ambos valores de pH analizados lo suficientemente altos como para provocar la ionización parcial o total de los grupos ácido y manifestar el efecto observado.

Por su parte, el aumento en la temperatura del medio fue el responsable del colapso observado para todos los materiales. En este sentido, a 20°C prevalecen las interacciones entre los grupos amido de NiPAm y las moléculas de agua, dando como consecuencia el estado hinchado del hidrogel analizado. A 60°C, la disminución de las interacciones puente hidrógeno entre NiPAm y el solvente, y la consiguiente disminución del carácter hidrofílico del material como resultado del aumento de las interacciones entre los grupos isopropilo, genera la expulsión del solvente desde el seno del material. Este proceso tiene como resultado el colapso del hidrogel

Parte II: Hidrogeles: Síntesis, caracterización y estudio de sus propiedades

a temperaturas altas, lo que se ve traducido en la disminución de  $q_w$ , tal como mostró la Figura 4.3.

## Conclusiones Parciales

El resultado más destacable de esta parte del trabajo fue la obtención de una red expandible de respuesta dual tanto a los cambios de temperatura como de pH del medio circundante. El punto de mayor interés fue la utilización de un monómero dendrítico como lo es ABC, previamente sintetizado. La incorporación de este monómero en la red polimérica, además de generar la correspondiente respuesta a los cambios de pH, extiende el concepto dendrítico en la totalidad del material. Este hecho posiciona al material como buen candidato para su evaluación en escala nanoscópica, pudiendo lograrse posteriores aplicaciones en diversos campos.

Por otro lado, se lograron redes expandibles sensibles a cambios en los valores de pH del medio a partir de la copolimerización de HEMA con IA o AEMA. En este sentido, la respuesta varió hacia valores de pH básicos o ácidos, dependiendo del comonómero empleado respectivamente. Estos materiales de fácil obtención y con buenas propiedades mecánicas observables, presentaron buenos índices de hinchamiento, aunque su escasa respuesta desde su forma xerogel, condicionando su empleo en secciones posteriores de este trabajo.

## Referencias

- (1) Dragan, E. S. *Chem. Eng. J.* **2014**, *243*, 572–590.
- (2) Meng, H.; Jinlian Hu. *J. Intell. Mater. Syst. Struct.* **2010**, *21* (9), 859–885.
- (3) Zhang, X.; Achazi, K.; Steinhilber, D.; Kratz, F.; Dervede, J.; Haag, R. *J. Control. Release* **2014**, *174* (1), 209–216.
- (4) Abandansari, H. S.; Nabid, M. R.; Rezaei, S. J. T.; Niknejad, H. *Polymer*, **2014**, *55* (16), 3579–3590.
- (5) Zhao, C.; Chen, Q.; Patel, K.; Li, L.; Li, X.; Wang, Q.; Zhang, G.; Zheng, J. *Soft Matter* **2012**, *8*, 7848–7857.
- (6) Jiang, D.; Wang, G.; Zheng, F.; Han, J.; Wu, X. *Polym. Chem.* **2015**, *6* (4), 625–632.
- (7) Wang, Y.; Zheng, J.; Tian, Y.; Yang, W. *J. Mater. Chem. B* **2015**, *3* (28), 5824–5832.
- (8) Chiang, W.; Ho, V. T.; Chen, H.; Huang, W.; Huang, Y.; Lin, S.; Chern, C.; Chiu, H. *Langmuir* **2013**, *29*, 6434–6443.
- (9) Liu, J.; Detrembleur, C.; Debuigne, A.; De Pauw-Gillet, M.-C.; Mornet, S.; Vander Elst, L.; Laurent, S.; Duguet, E.; Jérôme, C. *J. Mater. Chem. B* **2014**, *2*, 1009–1023.
- (10) Salehi, R.; Rasouli, S.; Hamishehkar, H. *Int. J. Pharm.* **2015**, *487*, 274–284.
- (11) Zhan, Y.; Gonçalves, M.; Yi, P.; Capelo, D.; Zhang, Y.; Rodrigues, J.; Liu, C.; Tomás, H.; Li, Y.; He, P. *J. Mater. Chem. B* **2015**, *3* (20), 4221–4230.
- (12) Lim, H. L.; Hwang, Y.; Kar, M.; Varghese, S. *Biomater. Sci.* **2014**, *2*, 603–618.
- (13) Soppimath, K. S.; Aminabhavi, T. M.; Dave, a M.; Kumbar, S. G.; Rudzinski, W. E. *Drug Dev. Ind. Pharm.* **2002**, *28* (8), 957–974.

- (14) Qiu, Y.; Park, K. *Adv. Drug Deliv. Rev.* **2012**, *64*, 49–60.
- (15) Ramos, J.; Imaz, A.; Forcada, J. *Polym. Chem.* **2012**, *3*, 852–856.
- (16) Hu, Z.; Cai, T.; Chi, C. *Soft Matter* **2010**, *6*, 2115–2123.
- (17) Liu, F.; Urban, M. W. *Prog. Polym. Sci.* **2010**, *35*, 3–23.
- (18) Schild, H. G. *Prog. Polym. Sci.* **1992**, *17* (2), 163–249.
- (19) Nayak, S.; Andrew Lyon, L. *Angew. Chemie - Int. Ed.* **2005**, *44* (47), 7686–7708.
- (20) Cuggino, J. C.; Alvarez Igarzabal, C. I.; Strumia, M. C.; Welker, P.; Licha, K.; Steinhilber, D.; Mutihac, R.; Calderón, M. *Soft Matter* **2011**, *7*, 11259–11266.
- (21) Rzaev, Z. M. O.; Dinçer, S.; Pişkin, E. *Prog. Polym. Sci.* **2007**, *32* (5), 534–595.
- (22) Liu, R.; Fraylich, M.; Saunders, B. R. *Colloid Polym. Sci.* **2009**, *287* (6), 627–643.
- (23) Cuggino, J. C.; Strumia, M. C.; Alvarez Igarzabal, C. I. *React. Funct. Polym.* **2011**, *71* (4), 440–446.
- (24) Zintchenko, A.; Ogris, M.; Wagner, E. *Bioconjug. Chem.* **2006**, *17* (3), 766–772.
- (25) Guan, Y.; Zhang, Y. *Soft Matter* **2011**, *7*, 6375–6384.
- (26) Barber, P. S.; Kelley, S. P.; Griggs, C. S.; Wallace, S.; Rogers, R. D. *Green Chem.* **2014**, *16*, 1828–1836.
- (27) Koetting, M. C.; Peters, J. T.; Steichen, S. D.; Peppas, N. *Mater. Sci. Eng. R Reports* **2015**, *93*, 1–49.
- (28) Wichterle, O.; Lim, D. *Nature* **1960**, *185* (4706), 117–118.
- (29) Ullah, F.; Othman, M. B. H.; Javed, F.; Ahmad, Z.; Akil, H. M. *Mater. Sci. Eng. C* **2015**, *57*, 414–433.
- (30) Hoffman, A. S. *Adv. Drug Deliv. Rev.* **2012**, *64*, 18–23.
- (31) Willke, T.; Vorlop, K. D. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* **2001**, *56*, 289–295.

- (32) Veličković, S. J.; Džunuzović, E. S.; Griffiths, P. C.; Lacik, I.; Filipović, J.; Popović, I. G. *J. Appl. Polym. Sci.* **2008**, *110* (5), 3275–3282.
- (33) Luo, J.; Wang, X.; Xia, B.; Wu, J. *J. Macromol. Sci. Part A* **2010**, *47* (9), 952–956.
- (34) Lim, S. H.; Hudson, S. M. *Carbohydr. Res.* **2004**, *339* (2), 313–319.
- (35) Kim, J. Y.; Lee, J. K.; Lee, T. S.; Park, W. H. *Int. J. Biol. Macromol.* **2003**, *32*, 23–27.
- (36) Sajomsang, W.; Tantayanon, S.; Tangpasuthadol, V.; Daly, W. H. *Carbohydr. Res.* **2009**, *344* (18), 2502–2511.
- (37) Abdelaal, M. Y.; Sobahi, T. R.; Al-Shareef, H. F. *Int. J. Biol. Macromol.* **2013**, *55*, 231–239.
- (38) Tan, H.; Ramirez, C. M.; Miljkovic, N.; Li, H.; Rubin, J. P.; Marra, K. G. *Biomaterials* **2009**, *30* (36), 6844–6853.
- (39) Wang, M. S.; Chen, S. J.; Huang, K. L.; Lai, Y. C.; Chang-Chien, G. P.; Tsai, J. H.; Lin, W. Y.; Chang, K. C.; Lee, J. T. *Chemosphere* **2010**, *80*, 1220–1226.
- (40) Su, W. Y.; Chen, Y. C.; Lin, F. H. *Acta Biomater.* **2010**, *6* (8), 3044–3055.
- (41) Smith, P. A. S. *Org. Synth.* **1963**, *4*, 819–823.
- (42) García Schejtman, S. D.; Toselli, R.; Strumia, M. C.; Martinelli, M. *Polym. Bull.* **2015**, *72* (12), 3043–3062.
- (43) Muzzarelli, R. A. A. *Carbohydr. Polym.* **2009**, *77* (1), 1–9.
- (44) Pohjanlehto, H.; Setälä, H.; Kammiovirta, K.; Harlin, A. *Carbohydr. Res.* **2011**, *346*, 2736–2745.
- (45) Ferreira, L.; Vidal, M. M.; Gil, M. H. *Int. J. Pharm.* **2000**, *194* (2), 169–180.
- (46) Weast, R. C. *CRC Handbook of Chemistry and Physics*; Weast, R. C., Ed.; CRC Press, Inc: Boca Raton, Florida, **1988**.
- (47) Thompson, K. L.; Read, E. S.; Armes, S. P. *Polym. Degrad. Stab.* **2008**, *93* (8), 1460–1466.

- (48) Paez, J. I.; Martinelli, M.; Brunetti, V.; Strumia, M. C. *Polymers (Basel)*. **2012**, *4* (4), 355–395.
- (49) Cuggino, J. C.; Charles, G.; Gatti, G.; Strumia, M. C.; Alvarez Igarzabal, C. I. *J. Biomed. Mater. Res. - Part A* **2013**, *101* (12), 3372–3381.





*Parte III*

---

*Redes poliméricas interpenetradas  
dendronizadas*

## Antecedentes y Generalidades

Las redes poliméricas interpenetradas, comúnmente denominadas IPN por sus siglas en inglés, son una clase particular de geles en donde dos o más redes poliméricas están combinadas y al menos una de las mismas ha sido sintetizada o entrecruzada en presencia de la otra. En este sentido, la segunda red esta idealmente “enredada” o “interpenetrada” dentro de la primera, y mantenida sólo por interacciones topológicas o puntos de enredo sin formar uniones covalentes con la misma<sup>1-3</sup>. Así, cada red logra mantener sus propiedades individuales, por lo que las propiedades finales del sistema resultan en un sinergismo de estas<sup>4</sup>.

El primer reporte de redes tipo IPN fue realizado por Aylsworth en 1914, donde se patentó la obtención de un compuesto de goma natural, azufre y resinas de fenol-formaldehído<sup>5</sup>. Recién en 1960 fue introducido el término IPN, gracias al trabajo de Millar y colaboradores sobre redes de estireno y divinil benceno<sup>6</sup>.

Diversos tipos de clasificaciones se pueden realizar sobre estos materiales<sup>4,7,8</sup>. Una de las más utilizadas para distinguir a estos materiales es según su naturaleza química, en donde se puede distinguir a un *full* IPN, en donde coexisten dos redes entrecruzadas independientes en el mismo espacio físico, o un *semi* IPN, en el cual hay una red entrecruzada y un polímero lineal interpenetrado en la misma. La Figura III.I muestra una representación gráfica de las mismas.

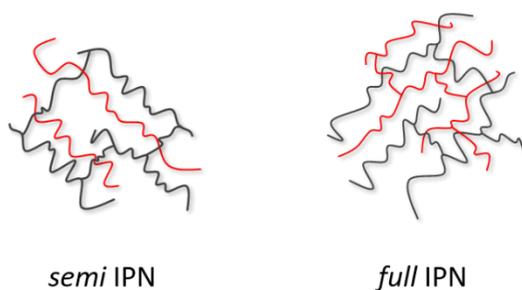
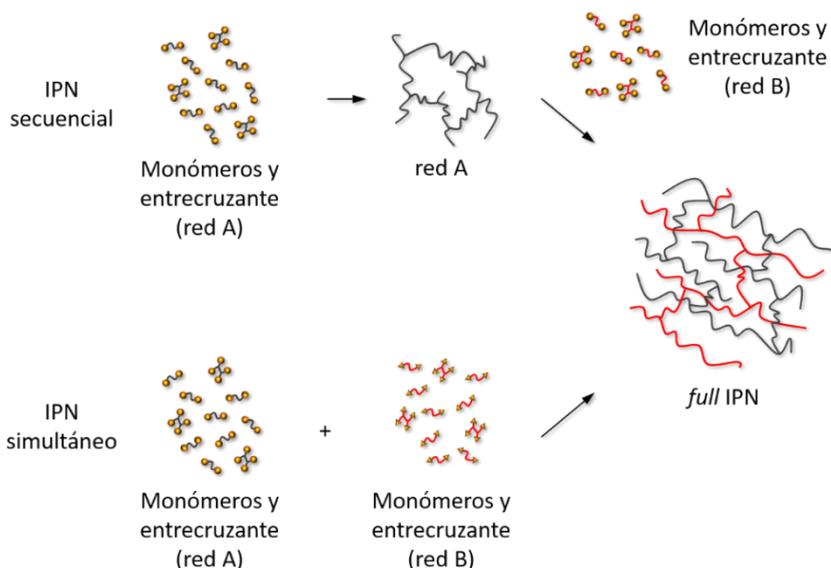


Figura III.I: clasificación de IPN según su naturaleza química.

Al mismo tiempo, se pueden clasificar estos materiales según la naturaleza del método sintético empleado para su obtención. Los IPN *secuenciales*, en donde inicialmente se polimeriza y/o entrecruza la primera red, y luego la misma es hinchada en una solución de monómeros que formarán la segunda red, que será polimerizado y/o entrecruzada con posterioridad. Por otro lado, los IPN *simultáneos* se obtienen mediante la polimerización y/o entrecruzamiento de dos redes poliméricas en una sola etapa. La clave de este método es que cada componente del IPN debe polimerizar simultáneamente, pero por vías que no interfieran entre sí. La Figura III.II representa los tipos de IPN clasificados según la metodología de obtención. Para simplificar la representación, solamente se muestra la obtención de un sistema *full IPN*.



*Figura III.II: clasificación de IPN según la metodología de preparación empleada.*

Dada la inmensa cantidad y variedad de polímeros aptos para ser interpenetrados, se obtiene un amplio espectro de productos obtenidos por alguna de estas vías. Polímeros naturales como quitosán, alginato de sodio o celulosa han sido interpenetrados en matrices poliméricas mediante una metodología intermedia a las mostradas con anterioridad o pseudo secuencial, donde la formación de la red entrecruzada se realiza en presencia de cadenas lineales de estos polímeros<sup>9-13</sup>. Por otro lado, la interpenetración de polímeros con respuesta a estímulos también ha sido evaluada de forma sistemática, combinando mayoritariamente polímeros pH o termosensibles<sup>14-16</sup>.

En esta parte del trabajo se propone la síntesis y caracterización de nuevos materiales del tipo IPN dendronizados, de los cuales no existen reportes bibliográficos. Para llevar a cabo este objetivo, se planteó la

combinación de redes expandibles y polímeros dendronizados, obtenidos con anterioridad y presentados en los Capítulos precedentes, de manera de lograr materiales del tipo *semi* IPN.





## *Capítulo 5*

---

### *Sistemas interpenetrados basados en HEMA o NiPAm*

## Planteo Experimental

El objetivo perseguido en esta sección fue el de incorporar polímeros dendronizados en forma de cadenas interpenetradas dentro de los hidrogeles. Para ello se planteó combinar en un mismo material, tanto los polímeros dendronizados estudiados en la Parte I, junto con las redes poliméricas expandibles analizadas en la Parte II de esta Tesis Doctoral. De este modo se plantearon dos alternativas posibles, por un lado materiales basados en redes de poli(HEMA) interpenetradas con Ch dendronizado y por otro redes de poli(NiPAm) interpenetradas con poli(ABC).

## Métodos

### Materiales IPN basados en poli(HEMA) y Ch dendronizado

La metodología utilizada para la obtención de los hidrogeles de HEMA fue similar a la descrita en el Capítulo 4.

Brevemente, diferentes cantidades de Ch-WeisCOOH o Ch-Weis-GTMAC, tal como se muestran en la Tabla 5.1 en la sección de Resultados y Discusión, se disolvieron en un vial junto con 1 mL de agua destilada por un periodo de 3 horas a temperatura ambiente. Luego, un total de 4,3 mmol de HEMA, junto con un 1% mol de BIS referido al total de moles de monómero, fueron agregados a la solución. Se burbujeó con N<sub>2</sub> por un periodo de 10 minutos y se llevó a un baño de agua/hielo por aproximadamente 5 minutos. Luego, se adicionó 5% mol de APS y 5% mol de TEMED, se homogeneizó y se trasvasó rápidamente a una jeringa de polipropileno que sirvió como reactor de la polimerización. Los sistemas se dejaron gelificar por un periodo de 72 horas a temperatura ambiente.

Transcurrido dicho tiempo, el gel formado se cortó en discos de 2 mm de espesor y se lavaron en H<sub>2</sub>O destilada por 4 días, realizando cambio del solvente de lavado cada 24 horas.

### Materiales IPN basados en poli(NiPAm) y poli(ABC)

Los geles NiPAm 100% preparados con un 4% mol de BIS y 5% mol de APS se obtuvieron tal como se detalló en el Capítulo 4. Una vez recuperados, lavados y secos, los discos de hidrogel se pusieron en contacto con soluciones acuosas conteniendo diferentes concentraciones de ABC, como se detalla en la Tabla 5.2 en la sección de Resultados y Discusión. Los materiales se dejaron hinchar por un periodo de 8 horas a temperatura ambiente. Luego, se burbujeó con N<sub>2</sub> por 10 minutos y se adicionó 5% mol de APS, referida a la cantidad total de ABC, y se dejó homogeneizar por dos horas a temperatura ambiente. Posteriormente, se adicionó 5% mol de TEMED y se dejó reaccionar el sistema por 24 horas a temperatura ambiente. Los discos recuperados se lavaron en H<sub>2</sub>O destilada por 4 días, realizando cambio del solvente de lavado cada 24 horas.

## Resultados y Discusión

Una vez estudiadas las características de los hidrogeles basados en HEMA y en NiPAm en la Parte II de este trabajo de Tesis, se decidió evaluar la formación de sistemas interpenetrados dendronizados, empleando estos hidrogeles como base. En este sentido, la incorporación de cadenas o redes poliméricas con arquitecturas dendríticas mediante interpenetración es un proceso original que no ha sido reportado en bibliografía. Habiéndose obtenido los polímeros dendronizados, descritos en la Parte I, y los hidrogeles anteriormente mencionados, se decidió abordar el objetivo principal de esta sección del trabajo, combinando la experiencia adquirida en cada parte anteriormente desarrollada.

### Materiales IPN basados en poli(HEMA) y Ch dendronizado

Para estos materiales, se empleó una metodología pseudo secuencial, ya que se polimerizó la red expandible basada en monómeros de HEMA en presencia de las cadenas poliméricas dendronizadas de Ch. De esta manera se obtiene un material del tipo semi IPN, el cual está constituido por una red polimérica expandible y cadenas lineales independientes interpenetradas. Si este material sufriera el entrecruzamiento de las cadenas de polímero lineal interpenetrado, pasaría a formar un *full* IPN, con dos redes poliméricas idealmente yuxtapuestas en el mismo espacio físico y sin uniones covalentes entre ellas. En este sentido, si bien es posible llegar a materiales *full* IPN con relativa facilidad, solo se abordó la obtención de redes *semi* IPN.

Los materiales sintetizados mediante esta metodología se detallan en la Tabla 5.1 a continuación.

Tabla 5.1: Materiales semi IPN basados en HEMA.

| Material                             | Polímero interpenetrado* | Red polimérica                       |
|--------------------------------------|--------------------------|--------------------------------------|
| HEMA 100%                            | --                       | HEMA 100% entrecruzado con 1% de BIS |
| semi IPN HEMA 100% + Ch WeisCOOH 3   | 3% P/P<br>Ch WeisCOOH    |                                      |
| semi IPN HEMA 100% + Ch WeisCOOH 6   | 6% P/P<br>Ch WeisCOOH    |                                      |
| semi IPN HEMA 100% + Ch Weis GTMAC 3 | 3% P/P<br>Ch Weis GTMAC  |                                      |
| semi IPN HEMA 100% + Ch Weis GTMAC 6 | 6% P/P<br>Ch Weis GTMAC  |                                      |

\*% P/P referido a la masa total de HEMA empleada

A modo general, podemos mencionar los siguientes puntos de interés que resultaron del análisis de estos materiales.

En primera instancia, si bien la metodología empleada es ampliamente utilizada para la obtención de materiales similares<sup>17,18</sup>, en este caso resultó poco beneficiosa. En este sentido, la velocidad de polimerización de la red basada en HEMA se vio retardada, por lo que fueron necesarios mayores tiempos de polimerización. Los geles resultantes, además, presentaron secciones inhomogéneas visibles en su estructura macroscópica.

Por otro lado, si bien la solubilidad de los derivados dendronizados de Ch había sido evaluada cualitativamente con anterioridad, la misma se vio disminuida en el medio de reacción. La explicación a este fenómeno se basó en la intensa fuerza iónica presente en el medio de reacción, lo que probablemente disminuye la posibilidad de formar interacciones del tipo puente hidrógeno entre el polímero y el solvente. Si se combinan estas observaciones a lo planteado en el párrafo anterior, el resultado es la inevitable separación de fases durante el proceso de polimerización, y el consiguiente gradiente de interpenetración en el material resultante.

Otro punto interesante de destacar es que, en muchos casos, las soluciones de reacción se tornaban en líquidos altamente viscosos luego del agregado de APS, mostrando una inmediata separación de fases. Esto fue atribuido a la posibilidad de iniciar la degradación homolítica de APS por parte de los grupos amino libres de Ch<sup>19</sup>. Por este motivo y luego de varios ensayos, se concluyó que el procedimiento más adecuado resultó en la adición de APS y TEMED de manera simultánea y el inmediato traspaso al reactor de polimerización. Así mismo, los productos obtenidos presentaron las mismas desventajas descritas en los párrafos anteriores.

Por último, el escaso hinchamiento que mostraron las formas xerogel de los sistemas basados en HEMA, impidieron mayores análisis sobre los productos, como por ejemplo la determinación de  $q_w$  en diferentes condiciones.

Para la totalidad de los materiales obtenidos, se realizaron caracterizaciones espectroscópicas por FT-IR. Lamentablemente, dada la falta de reproducibilidad de los resultados encontrados en los ensayos de caracterización, sumados a las propiedades mecánicas desfavorables observadas, y a otros procesos que dificultaron la obtención del producto deseado, se realizó un cambio de sistema de trabajo. Es por este motivo, que no se muestra un análisis metódico en la discusión de estos resultados de esta sección del trabajo.

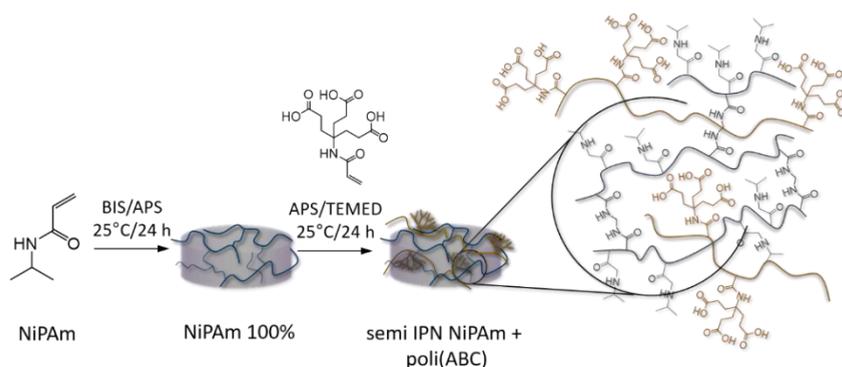
Si bien los resultados no fueron los esperados en esta etapa, no fueron desalentadores, ya que la experiencia ganada resultó de gran utilidad, tanto en el manejo experimental como en los conceptos adquiridos.

### Materiales IPN basados en poli(NiPAm) y poli(ABC)

Dadas las desventajas de trabajar con los sistemas anteriormente descritos, se decidió realizar el cambio de componentes estructurales (hidrogel y polímero dendronizado) y de metodología de obtención de los materiales tipo IPN. A partir de aquí, se escogió a la red NiPAm 100%,

preparada con 4% mol de BIS y 5% mol de APS, como red polimérica expandible, y poli(ABC) como polímero dendronizado. Ambos sistemas fueron estudiados en los Capítulos 4 y 2, respectivamente.

La metodología de interpenetración utilizada fue secuencial, mediante la cual discos del polímero NiPAm 100% se hincharon en solución acuosa del monómero dendrítico ABC, el cual se polimerizó en una etapa posterior, a fin de lograr el material *semi* IPN NiPAm 100% + poli(ABC). El Esquema 5.1 muestra el procedimiento sintético empleado.



*Esquema 5.1: formación del sistema semi IPN NiPAm 100% + poli(ABC).*

La elección del hidrogel NiPAm 100% radicó en su excelente capacidad de hincharse en soluciones acuosas, lo que posibilitó el empleo de esta metodología de síntesis. La Tabla 5.2 muestra las condiciones de síntesis empleadas para la preparación de los dos sistemas *semi* IPN realizados.

Tabla 5.2: Materiales semi IPN basados en NiPAm.

| Muestra                       | Polímero interpenetrado* | Red polimérica                            |
|-------------------------------|--------------------------|---|
| Semi IPN NiPAm 100% + 15% ABC | 15% P/P ABC              | NiPAm 100% entrecruzado con 4% mol de BIS |
| Semi IPN NiPAm 100% + 25% ABC | 25% P/P ABC              |   |

\*% P/P referido a la masa total de NiPAm 100% empleada

La caracterización espectroscópica por FT-IR no arrojó resultados concluyentes dada la superposición de señales encontrada, por lo que no se muestran.

A su vez, los índices de hinchamiento para estos materiales se determinaron a partir de las masas en equilibrio hidrodinámico a pH 3; 7,4 y 12, y temperaturas de 20 y 60°C, siendo estas por debajo y por encima de la temperatura de transición de fase teórica de los geles basados en NiPAm. Los resultados se muestran en la Figura 5.1 a fin de facilitar su visualización.

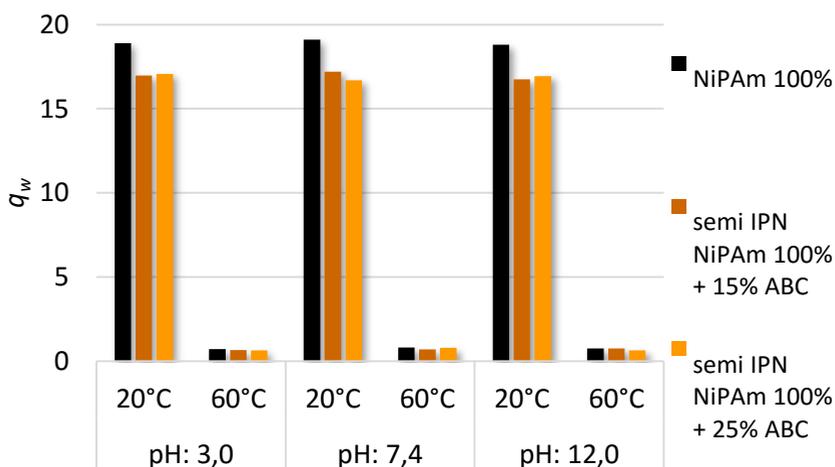


Figura 5.1:  $q_w$  de los materiales semi IPN basados en NiPAm 100%

Se pudo visualizar que los materiales no sufrieron cambios en su comportamiento físico frente a los cambios de temperatura. En este sentido, todos los polímeros analizados mostraron  $q_w$  semejantes antes y después del proceso de interpenetración. Por otro lado, el cambio en los valores de pH no manifestó modificación aparente en los índices de hinchamiento. El principal factor que explica este fenómeno es que al no tratarse de un *full* IPN, las cadenas libres de poli(ABC) pueden “fluir” libremente dentro de la matriz de NiPAm 100%. De esta manera, al deprotonarse por efecto del aumento de pH del medio, las mismas se separan por efecto repulsivo, pero no logran traccionar la red de NiPAm al no estar unidas a ella. De este modo, los análisis de los índices de hinchamiento no arrojaron resultados concluyentes de la presencia del polímero interpenetrado en la estructura del hidrogel.

Los materiales obtenidos fueron analizados mediante estudios reológicos. La Figura 5.2 muestra los resultados de los ensayos de barridos de velocidad angular versus fuerza normal, para la determinación de los módulos elástico ( $G'$ ) y viscoso ( $G''$ ) de cada material.

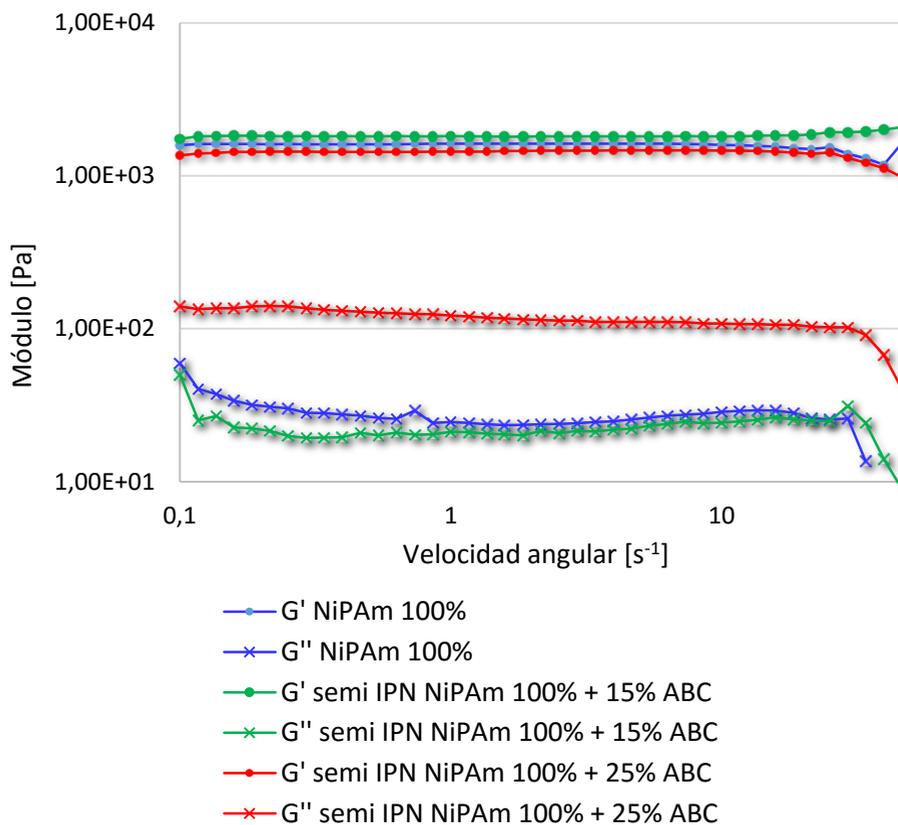


Figura 5.2: módulos elástico ( $G'$ ) y viscoso ( $G''$ ) de los materiales sintetizados.

La determinación de los módulos  $G'$  y  $G''$  permite conocer la magnitud de la componente elástica o viscosa, respectivamente, del material analizado. En este sentido, los estudios reológicos brindan información sobre la respuesta de un material frente a condiciones de estrés mecánico. Su uso para la caracterización de hidrogeles permite conocer la capacidad de fluir de los mismos, denominado comportamiento

viscoso; y la capacidad de los hidrogeles de recuperar su forma o estado original, es decir, su comportamiento elástico<sup>20</sup>.

Tal como puede observarse en la Figura 5.2, tanto los materiales interpenetrados, como el material NiPAm 100%, presentaron semejantes valores de módulo elástico  $G'$ , demostrando que el proceso de interpenetración no modifica de manera la capacidad de recuperación de la forma original del material. A diferencia de esto, el cambio observado en el módulo viscoso  $G''$ , indicó que el material con 25% de ABC interpenetrado, se tornó más viscoso. Este resultado es indicio de la presencia de cadenas poliméricas no entrecruzadas en el sistema, las cuales pueden fluir o desplazarse en el espacio, aumentando el valor de  $G''$ . Para el material *semi* IPN NiPAm 100% + 15% ABC, no se notó un cambio significativo en el valor del módulo viscoso. Posiblemente, y debido a que la viscosidad relativa de una solución polimérica depende de manera proporcional de la masa molar del mismo<sup>20</sup>, en las condiciones de síntesis, se podría asumir que los tamaños de polímero alcanzado no hayan sido lo suficientemente elevados como para modificar los parámetros reológicos.

Si bien estos resultados fueron útiles para complementar los estudios espectroscópicos y físicos, sólo arrojaron indicios indirectos de la factibilidad de interpenetración del polímero dendronizado en la matriz de NiPAm 100%.

A pesar de no haber tenido resultados concluyentes de la obtención de los materiales deseados en los sistemas *semi* IPN basados en HEMA o en NiPAm, el desarrollo de esta sección del trabajo permitió realizar una primera aproximación al estudio de este tipo de materiales, identificando los posibles alcances de las metodologías sintéticas y las técnicas de caracterización apropiadas para su estudio.

## Conclusiones Parciales

En esta etapa del trabajo de Tesis Doctoral, se abordó la obtención de materiales interpenetrados dendronizados. Si bien existen innumerables referencias bibliográficas referidas a la interpenetración de polímeros clásicos, no sucede lo mismo con los materiales dendronizados. De esta manera, se logró estudiar diferentes alternativas de obtención y análisis de estos materiales interpenetrados dendronizados altamente novedosos, empleando como base los conocimientos adquiridos en la preparación de redes poliméricas expandibles y polímeros dendronizados, detallados en secciones anteriores.

Si bien no se lograron los resultados esperados, el trabajo realizado fue útil como plataforma para futuros abordajes al tema en cuestión, habiéndose identificado las fortalezas y debilidades de cada sección.

## Referencias

- (1) Shivashankar, M.; Mandal, B. K. *Int. J. Pharm. Pharm. Sci.* **2012**, *4* (5), 1–7.
- (2) Myung, D.; Waters, D. J.; Wiseman, M. E. Al. *Polym. Adv. Technol.* **2008**, *19* (6), 647–657.
- (3) Peppas, N. A.; Zhang, J. *Encycl. Biomater. Biomed. Eng.* **2006**, 1–9.
- (4) Lohani, A.; Singh, G.; Bhattacharya, S. S.; Verma, A. *J. Drug Deliv.* **2014**, *2014*, 1–11.
- (5) Aylsworth, J. W. Plastic composition. US Patent 1111284, September 22, **1914**.
- (6) Millar, J. R. *J. Chem. Soc.* **1960**, 1311–1317.
- (7) Dragan, E. S. *Chem. Eng. J.* **2014**, *243*, 572–590.
- (8) Bajpai, a. K.; Shukla, S. K.; Bhanu, S.; Kankane, S. *Prog. Polym. Sci.* **2008**, *33* (11), 1088–1118.
- (9) Wang, M.; Qiang, J.; Fang, Y. U.; Hu, D.; Cui, Y.; Fu, X. *J. Polym. Sci. Part A Polym. Chem.* **1999**, *38*, 474–481.
- (10) Tiğli, R. S.; Gümüşderelioğlu, M. *J. Mater. Sci. Mater. Med.* **2009**, *20* (3), 699–709.
- (11) Laskar, J.; Vidal, F.; Fichet, O.; Gauthier, C.; Teyssié, D. *Polymer*, **2004**, *45* (15), 5047–5055.
- (12) Krishna Rao, K. S. V; Vijaya Kumar Naidu, B.; Subha, M. C. S.; Sairam, M.; Aminabhavi, T. M. *Carbohydr. Polym.* **2006**, *66* (3), 333–344.
- (13) Liu, Y.; Cao, X.; Hua, R.; Wang, Y.; Liu, Y.; Pang, C.; Wang, Y. *Hydrometallurgy* **2010**, *104* (2), 150–155.
- (14) Verestiuc, L.; Ivanov, C.; Barbu, E.; Tsibouklis, J. *Int. J. Pharm.* **2004**, *269* (1), 185–194.

- (15) Li, X.; Wu, W.; Wang, J.; Duan, Y. *Carbohydr. Polym.* **2006**, *66* (4), 473–479.
- (16) Ma, J.; Xu, Y.; Fan, B.; Liang, B. *Eur. Polym. J.* **2007**, *43*, 2221–2228.
- (17) Han, Y. A.; Lee, E. M.; Ji, B. C. *Fibers Polym.* **2008**, *9* (4), 393–399.
- (18) Zhou, Y.; Yang, D.; Gao, X.; Chen, X.; Xu, Q.; Lu, F.; Nie, J. *Carbohydr. Polym.* **2009**, *75* (2), 293–298.
- (19) Wei, D.; Qian, W. *Colloids Surf. B. Biointerfaces* **2008**, *62* (1), 136–142.
- (20) Billmeyer, F. W. *Textbook of Polymer Science*, 3rd Ed.; Wiley, **1984**.



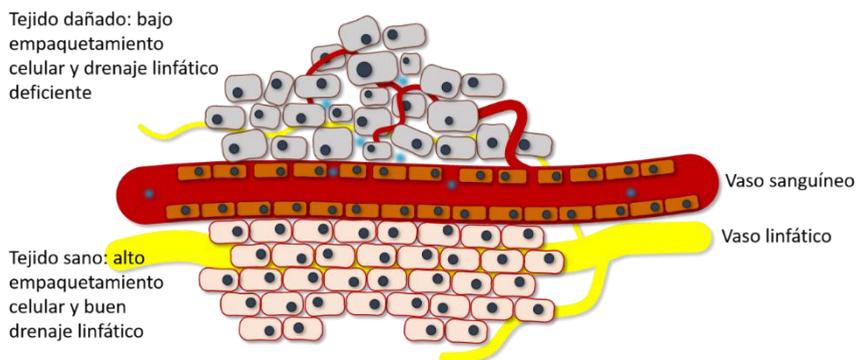
## *Parte IV*

---

### *Sistemas nanoscópicos. Síntesis, caracterización y potenciales aplicaciones*

## Antecedentes y Generalidades

Los nanogeles (*NG*) son partículas de tamaño submicrónico conformadas por redes poliméricas entrecruzadas los cuales, por sus pequeñas dimensiones y a diferencia de los hidrogeles convencionales, tienen propiedades interesantes de explorar y pueden ser aplicados en diversos campos de estudio<sup>1</sup>. Al igual que los materiales macroscópicos y dependiendo de sus componentes químicos, los NG pueden absorber y retener grandes cantidades de agua o fluidos biológicos, tener diversos comportamientos o propiedades físico químicas, y/o ser considerados como materiales biocompatibles. En este sentido, un beneficio importante dado por la escala nanométrica, es la capacidad de evadir procesos de extravasación y eliminación renal, por lo que pueden circular en el torrente sanguíneo por mayor cantidad de tiempo y penetrar en un tejido u órgano dañado por difusión simple a través de su arquitectura o empaquetamiento irregular<sup>2</sup>. Si a esto se suma el escaso drenaje linfático presente en tejidos tumorales u otros sitios enfermos, se puede dar el fenómeno conocido como Permeación y Retención Aumentada o “*Enhanced Permeation and Retention*” (*EPR*)<sup>3</sup>. De esta manera, los sistemas nanométricos pueden acumularse en tejidos dañados por un proceso de orientación o *targeting* pasivo<sup>4</sup>. Al mismo tiempo este efecto constituye el paradigma de los sistemas nanométricos, en donde su acumulación puede resultar efectos tóxicos. La Figura IV.I muestra una representación del efecto EPR en tejidos dañados.



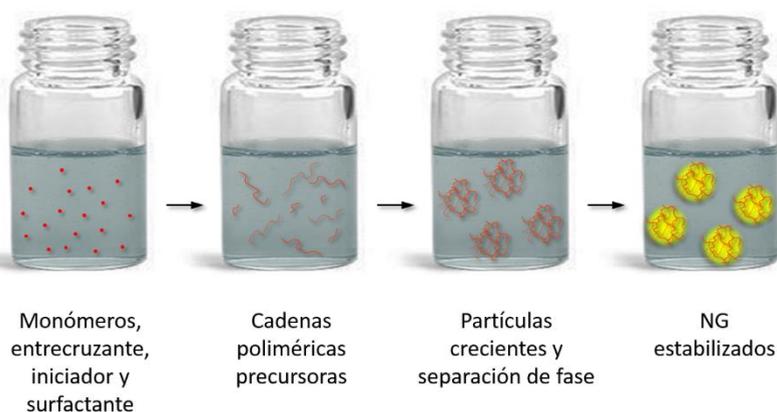
*Figura IV.I: Targeting pasivo dado por efecto EPR.*

Al igual que los hidrogeles macroscópicos, el estudio sobre NG inteligentes o sensibles a estímulos externos ha crecido en los últimos años. Ejemplo de ellos son NG sensibles a cambios de pH, temperatura, luz, campo magnético, entre otros<sup>5-14</sup>. Estas propiedades abren a los nanomateriales, como los NG, un nuevo horizonte para su uso como productos poliméricos para aplicaciones biomédicas, como por ejemplo, sistemas de liberación de drogas de interés<sup>15</sup>, aplicaciones teragnósticas<sup>16</sup>, terapia génica<sup>17</sup>, entre otras.

Particularmente, los NG termosensibles basados en monómeros de NiPAm han sido extensamente estudiados, dada las diversas metodologías de síntesis existentes para su obtención<sup>7</sup>, a la vez que la copolimerización de este monómero se puede lograr con relativa sencillez, tal como se analizó en el Capítulo 4 de este trabajo de Tesis Doctoral, lo que imparte nuevas propiedades al material obtenido.

El principal método sintético para obtener NG de NiPAm es la polimerización por precipitación. Esta metodología fue presentada por Pelton y colaboradores en 1986, para la preparación de partículas látex de poli(NiPAm)<sup>18</sup>. En este proceso, monómeros, entrecruzante, iniciador y un agente estabilizante, generalmente un surfactante iónico, se

disuelven en agua y la reacción tiene lugar a temperaturas por encima de la temperatura crítica de transición de fase de poli(NiPAm). A partir de allí, un proceso de nucleación homogénea es el encargado de la formación de las partículas poliméricas. En este sentido, las cadenas de polímero crecen hasta alcanzar un peso molecular crítico, precipitando en forma de nanopartículas, las que son estabilizadas por el surfactante presente en el medio de reacción. La Figura IV.II esquematiza este proceso de obtención de NG.



*Figura IV.II: representación del principio de polimerización por precipitación.*

En esta parte del trabajo se planteó el objetivo de llevar a la escala nanométrica los sistemas macroscópicos basados en NiPAm que demostraron mejores propiedades en los estudios presentados en los Capítulos 4 y 5. En este sentido, se propuso la obtención de NG copoliméricos dendronizados con respuesta dual al cambio de temperatura y pH del medio. Por otro lado, también se propone la

preparación de sistemas semi interpenetrados termosensibles, a fin de lograr un sistema con multifuncionalidad modulada.

El desarrollo de esta sección del trabajo de Tesis Doctoral fue realizado en colaboración con el grupo del Prof. Dr. Marcelo Calderón, en el Instituto de Química y Bioquímica de la Universidad Libre de Berlín, en el marco del proyecto de investigación Focus Area NanoScale - Freie Universität Berlin.





## ***Capítulo 6***

---

***Nanogeles dendronizados copoliméricos  
termo y pH sensibles basados en NiPAm***

## Planteo Experimental

Esta etapa de trabajo, como la que corresponde al siguiente Capítulo, se planteó con el objetivo de extrapolar a la escala nanométrica los resultados más importantes obtenidos previamente en el desarrollo de este trabajo de Tesis. La base del trabajo consistió en lograr sistemas de escala submicrónica en base a los análisis previos relativos a la preparación de copolímeros de NiPAm y ABC que se detalló en el Capítulo 4.

## Métodos

### Preparación de NG copoliméricos basados en NiPAm

Los diversos productos fueron obtenidos variando la composición e identidad de monómeros e iniciador, y concentración de entrecruzante y surfactante. El procedimiento empleado para la obtención de los NG fue similar en todos los casos y se detalla a continuación de manera simplificada, empleando las proporciones que se detallan en la Tabla 6.1 en la sección de Resultados y Discusión.

En un vial, un total de 0,265 mmol de monómeros se disolvió en 3 mL de agua destilada a temperatura ambiente. El agente entrecruzante BIS y el surfactante SDS se agregaron a la solución. La mezcla de reacción se burbujeó con Ar por 15 minutos y luego la solución se llevó a 85°C con agitación vigorosa. Alcanzada la temperatura, la reacción se inició mediante el agregado de una solución del iniciador radicalario. Después de 5 horas de reacción, los NG se purificaron mediante diálisis (membrana 50 kDa) en agua destilada por 7 días, realizando cambio del solvente de lavado cada 24 horas. Luego de los lavados, los NG se liofilizaron,

obteniéndose en todos los casos un sólido blanco (Rendimientos superiores al 85% en todos los casos).

### Cargado y liberación de *cis*-Pt

Este estudio se realizó solamente para los NG NiPAm-ABC 5% preparados con 4% mol de BIS y 5% mol de VA-086.

En un vial, 1 mg de NiPAm-ABC 5% y 1 mg de *cis*-Pt se disolvieron en 1 mL de una solución de NaOH 0,01 M. La solución se dejó incubar por 24 horas a 37°C a fin de lograr el cargado de la droga en el NG. Luego del periodo de incubación, los NG fueron recuperados por ultrafiltración, empleando un cartucho de diálisis de 300 kDa y la eficacia de cargado de *cis*-Pt se cuantificó mediante espectrofotometría UV-vis empleando el ensayo colorimétrico de O-fenilendiamina<sup>19</sup> en el sobrenadante recuperado.

Los complejos de NG cargados con *cis*-Pt se dializaron en soluciones buffer citrato pH 3,0, buffer acetato pH 5,0 o buffer fosfato pH 7,4, de fuerza iónica 0,9% NaCl, empleando una membrana de diálisis de 1000 kDa. Diversas alícuotas de estas soluciones fueron tomadas a intervalos específicos de tiempo y el contenido de *cis*-Pt se cuantificó nuevamente empleando el ensayo colorimétrico de O-fenilendiamina.

## Resultados y Discusión

### Nanogeles copoliméricos de NiPAm y ABC

La obtención de materiales en la escala nanométrica se logró empleando como referencia las condiciones experimentales utilizadas para la síntesis de los materiales en escala macroscópica, mostrados y discutidos en los Capítulos previos. En este sentido, se nanoescalaron aquellos sistemas que se consideraron aptos para formar partículas mediante la técnica de polimerización por precipitación en solución acuosa, tales como los geles basados en NiPAm. Además, se evaluó la incorporación de diversos monómeros con funcionalidad ácida, tal como ABC, AI o AA.

De manera resumida, las cadenas de polímero que crecen en el seno del reactor a temperaturas muy por encima de la temperatura de transición de fase de poli(NiPAm), alcanzan un peso molecular crítico y colapsan. La presencia de SDS como surfactante previene la precipitación del polímero formado, estabilizando las nanopartículas dispersas como suspensión coloidal<sup>18</sup>.

Tal como ocurrió en los casos anteriores, la primera etapa del proceso fue poner a punto la preparación de los NG. Si bien la metodología resultó sencilla, el mayor inconveniente radicó en la factibilidad de obtener sistemas monodispersos. Se variaron tanto la composición monomérica, para obtener homo o copolímeros, como así también la concentración de entrecruzante y la cantidad y tipo de iniciador y de surfactante.

La Tabla 6.1 resume sólo las condiciones empleadas que dieron como resultado sistemas monodispersos, determinados por DLS. En todos los casos se empleó una concentración de SDS de 1 mg mL<sup>-1</sup>.

Tabla 6.1: composiciones de los NG sintetizados.

| Muestra              | Monómeros |            | BIS<br>(% mol)* | Iniciador<br>(% mol)* |
|----------------------|-----------|------------|-----------------|-----------------------|
|                      | NiPAm     | Comonómero |                 |                       |
| <b>Homopolímeros</b> |           |            |                 |                       |
| NiPAm 100%           | 100%      | 0%         | 1%              | 5% APS<br>5% VA-086   |
|                      |           |            | 2%              | 5% APS                |
|                      |           |            | 4%              | 5% APS                |
|                      |           |            |                 | 5% VA-086             |
| <b>Copolímeros</b>   |           |            |                 |                       |
| NiPAm-ABC 2%         | 98%       | 2%         | 4%              | 5% APS<br>5% VA-086   |
| NiPAm-ABC 5%         | 95%       | 5%         |                 | 5% APS<br>5% VA-086   |
| NiPAm-ABC 10%        | 90%       | 10%        |                 | 5% APS<br>5% VA-086   |
| NiPAm-IA 3%          | 97%       | 3%         |                 | 5% APS                |
| NiPAm-IA 7,5%        | 92,5%     | 7,5%       |                 |                       |
| NiPAm-IA 15%         | 85%       | 15%        |                 |                       |
| NiPAm-AA 6%          | 94%       | 6%         |                 |                       |
| NiPAm-AA 15%         | 85%       | 15%        |                 |                       |

\* relacionado al total de monómeros

La cantidad de entrecruzante se ajustó a fin de minimizar la formación de cadenas poliméricas no entrecruzadas presentes en el crudo de reacción. Estas cadenas lineales, al poder ovillarse y tener un tamaño hidrodinámico de unos pocos nanómetros, fueron detectadas por DLS, otorgándole a la muestra índices de polidispersidad elevados. Para los NG de NiPAm 100%, las concentraciones de 1%, 2% y 4% de BIS resultaron efectivas, obteniéndose materiales monodispersos. Sin embargo, se fijó 4% de BIS como cantidad de entrecruzante, dados los buenos resultados obtenidos en todos los casos realizados en estas condiciones.

Por otro lado, si bien el uso de APS como iniciador radicalario activado térmicamente fue altamente efectivo para la obtención de los NG, también se evaluó el uso de VA-086. Este iniciador radicalario es un derivado hidrosoluble de azobisisobutironitrilo (*AIBN*), el cual presentó algunas ventajas en su uso. Por un lado, la activación del iniciador puede ser realizada por temperatura, al igual que el APS, pero también puede lograrse mediante fotoinducción en longitudes de onda del UV cercano. Otro hecho destacable de VA-086 es que el radical formado una vez producida la ruptura homolítica, no es ionizable. Esto es una ventaja frente a muchos iniciadores, ya que los mismos se adicionan al extremo de la cadena polimérica dejando un grupo polar con carga, como es el grupo sulfato generado por el uso de APS. De esta manera, este iniciador no interfiere en técnicas que cuantifican carga neta sobre el material, como por ejemplo mediciones de potencial Zeta.

Puesta a punto la metodología para la obtención de los NG, se evaluó la incorporación de un comonomero tal como se realizó para los macrogeles presentados en el Capítulo 4, a fin de obtener una respuesta dual al pH y a la temperatura. De esta manera, se escogieron los monómeros ABC previamente sintetizado, IA y AA. Dado que el mayor interés fue obtener NG dendríticos, el estudio se centró en los copolímeros con ABC.

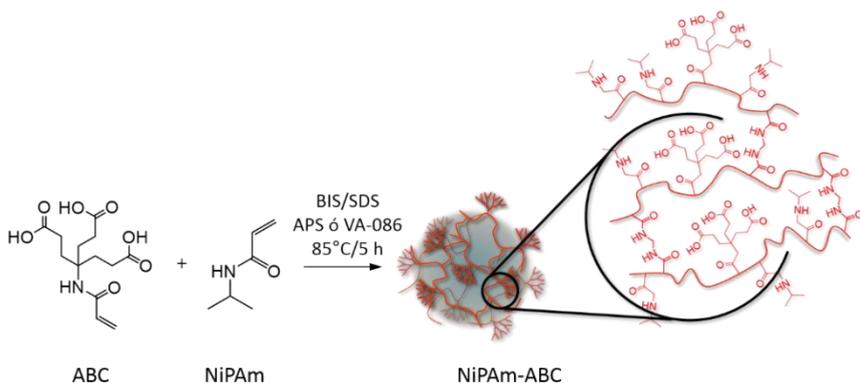
A fin de comparar y evaluar el efecto dendrítico aportado por la incorporación del monómero ABC, se sintetizaron diversos NG empleando AA y IA como comonomeros. En este sentido, las cantidades incorporadas de cada comonomero ácido se calcularon a fin de obtener similar cantidad de grupos ácido carboxílico en todos los casos. Así, mientras que una molécula de ABC aporta tres grupos ácido en configuración dendrítica, moléculas de IA y AA hacen lo propio con dos y un grupo ácido, respectivamente, por monómero en disposición no dendrítica.

Una vez logrados los NG detallados anteriormente, la incorporación de IA y AA se realizó a fin de obtener NG con la misma cantidad de grupos ácido,

pero en diferentes disposiciones, se obtuvieron las correspondientes series de materiales con cantidades equivalentes de grupos funcionales polares.

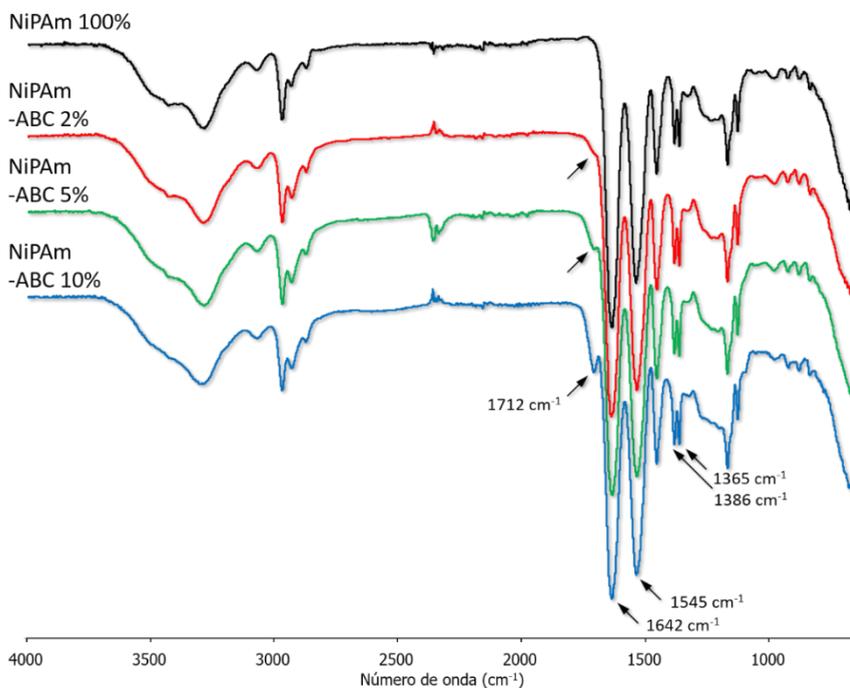
Los NG preparados y recuperados fueron analizados mediante técnicas espectroscópicas, en virtud de determinar de manera cuali y cuantitativa la cantidad de comonómero incorporado. Los sistemas que emplearon IA y AA presentaron monodispersidad, aunque se estableció que la incorporación del monómero ácido fue escasa y difícil de reproducir. Si bien los datos resultaron desalentadores, el estudio se focalizó en los NG que incorporaron la estructura dendrítica de ABC en su matriz. En virtud de esto, es que la discusión de los resultados que se realiza a continuación aborda la síntesis y caracterización de los NG copoliméricos de NiPAm-ABC.

Las condiciones estudiadas para la obtención de NG de NiPAm-ABC por la metodología de polimerización por precipitación se presentan en el Esquema 6.1.



*Esquema 6.1: formación de nanogel copolimérico NiPAm-ABC.*

La incorporación del comonomero dendrítico se confirmó y se siguió de manera sistemática mediante análisis espectroscópicos. Los espectros de FT-IR obtenidos para los productos se muestran en la Figura 6.1.



*Figura 6.1: espectros FT-IR de los NG sintetizados.*

Los NG de NiPAm 100% presentaron las señales típicas de este polímero<sup>20,21</sup> y discutidas en el Capítulo 4 de este trabajo. Análogamente a lo encontrado para los macrogeles, los espectros de FT-IR de los copolímeros con ABC mostraron la aparición de una nueva señal a 1715 cm<sup>-1</sup>, la cual se asignó al estiramiento del enlace carbonílico del dendrón. Además, se observó una correlación entre la intensidad relativa de la señal mencionada con la cantidad de monómero dendrítico utilizado.

La composición química de los NG se analizó también por  $^1\text{H}$ -RMN, a fin de corroborar los resultados obtenidos por FT-IR y ampliar la información alcanzada. La Figura 6.2 muestra los espectros obtenidos para las serie NiPAm-ABC.

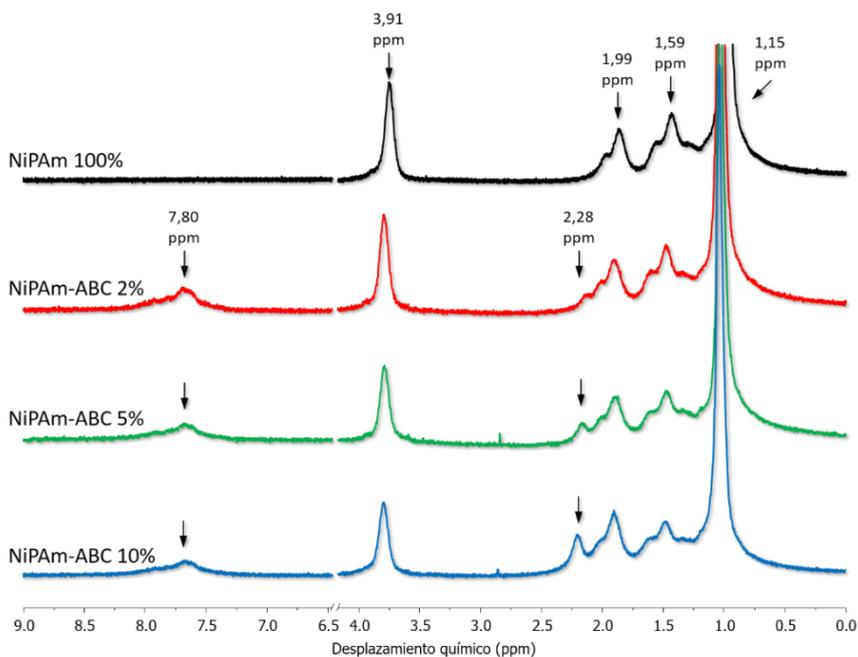


Figura 6.2: espectros  $^1\text{H}$ -RMN de los NG sintetizados.

El espectro de los NG de NiPAm 100% presentó las señales características correspondientes a los picos de los grupos metilo (1,15 ppm; 6H), los protones del esqueleto polimérico (1,59 ppm; 1H) y (1,99 ppm; 2H), y el protón correspondiente al carbono terciario (3,91 ppm; 1H)<sup>22</sup>. En total concordancia con lo hallado en FT-IR, los espectros de los copolímeros NiPAm-ABC mostraron las señales características de NiPAm y la aparición de una señal en forma de hombro a 2,28 ppm, que comenzó a definirse

más claramente a medida que aumentaba la concentración de ABC en la red. Además, se observó el ensanchamiento de la señal a 1,99 ppm se lo atribuyó a la superposición de la misma con la señal de los protones de los grupos metileno de ABC.

La señal observada en los NG copoliméricos a aproximadamente 7,80 ppm se atribuyó a los protones involucrados en la formación de puentes hidrógeno entre las moléculas de NiPAm y ABC presentes en las redes poliméricas.

Utilizando el área relativa entre la señal a 2,28 ppm y a 3,91 ppm, se realizó la cuantificación de ABC en las matrices poliméricas. Esto demostró que la técnica de preparación de los NG permite una incorporación del comonomero dendrítico en el rango del 77 al 98% del total utilizado en la síntesis.

De esta manera, fue fehacientemente confirmada la incorporación del monómero dendrítico en la estructura de los NG.

Una vez caracterizados los NG, se prosiguió con el análisis del su comportamiento frente a los cambios de temperatura y pH del medio.

Se determinó el tamaño hidrodinámico mediante DLS, variando los valores de temperatura y del pH del medio, tal como se presentan en la Tabla 6.2.

*Tabla 6.2: valores de diámetro hidrodinámico para los NG NiPAm-ABC en función de pH y temperatura del medio*

| Muestra *        | Tamaño a 25°C (nm) |                |                | Tamaño a 65°C (nm) |                |                |
|------------------|--------------------|----------------|----------------|--------------------|----------------|----------------|
|                  | pH: 3              | pH: 8          | pH: 10         | pH: 3              | pH: 8          | pH: 10         |
| NiPAm<br>100%    | 148<br>(0,108)     | 141<br>(0,128) | 147<br>(0,109) | 77<br>(0,043)      | 80<br>(0,207)  | 73<br>(0,019)  |
| NiPAm<br>-ABC 2% | 130<br>(0,138)     | 187<br>(0,251) | 200<br>(0,253) | 79<br>(0,018)      | 143<br>(0,182) | 148<br>(0,191) |

|          |         |         |         |         |         |         |
|----------|---------|---------|---------|---------|---------|---------|
| NiPAm    | 134     | 267     | 293     | 97      | 235     | 250     |
| -ABC 5%  | (0,057) | (0,191) | (0,140) | (0,042) | (0,127) | (0,110) |
| NiPAm    | 114     | 378     | 352     | 343     | 358     | 344     |
| -ABC 10% | (0,058) | (0,163) | (0,154) | (0,114) | (0,136) | (0,118) |

\*NG sintetizados empleando 4% mol de BIS y 5% mol de APS

Nota: los valores entre paréntesis ( ) indican el índice de polidispersidad obtenido para cada muestra.

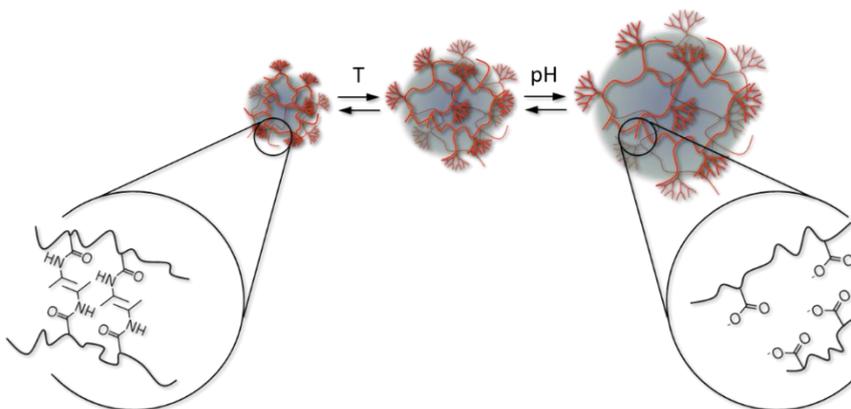
Conocida la respuesta a la temperatura que imparte la presencia de NiPAm en las matrices poliméricas, se estudiaron temperaturas por debajo y por encima de su temperatura teórica de transición de fase de NiPAm 100%, de aproximadamente 32°C. De esta manera, se observó que los NG tienen una clara respuesta a la temperatura, encontrándose colapsados a 65°C con la consiguiente disminución de tamaño. Esto se observó claramente para NiPAm 100%, el cual pasa de tamaños cercanos a 145 nm a 25°C a 75 nm a 65°C, correspondiente a temperaturas por encima de su transición de fase. De esta manera, la tendencia encontrada fue que los NG homopoliméricos respondieron a los cambios de temperatura, pero no presentaron comportamiento dependiente al pH del medio, situación acorde a la falta de grupos ionizables en las condiciones de trabajo.

Para los NG copoliméricos, se encontraron dos situaciones antagónicas. Por un lado, la presencia de NiPAm en los mismos confiere respuesta a la temperatura, tendiendo a la disminución del diámetro hidrodinámico del NG conforme aumenta la temperatura. Por otro lado, la presencia de ABC, el cual posee grupos ácido ionizables en su periferia, ocasionó la respuesta a cambios de pH. Los mismos tienden a deprotonarse a pH mayores a 5, por lo que los NG aumentaron su tamaño en estas condiciones debido a la repulsión de las cadenas poliméricas cargadas. Estos dos efectos contrapuestos fueron visibles mediante las mediciones de DLS presentadas en la Tabla 6.2. Para los casos de NG con incorporación de 2% y 5% de ABC, la tendencia sugirió que el efecto del colapsamiento a consecuencia del cambio de temperatura, fue

dominante frente al hinchamiento impuesto por el cambio de pH, observándose una disminución de tamaño en estos materiales estudiados a 65°C.

Para el sistema NiPAm-ABC 10%, el cambio de temperatura no mostró un claro efecto en el tamaño del NG en los experimentos realizados a pH 8 y 10. En estas condiciones, la repulsión electroestática debido a los grupos carboxilato presentes en la matriz es dominante frente a la termosensibilidad mostrada a pH bajos. De esta manera, se pudo establecer que NiPAm-ABC 10% sólo respondió a los cambios de temperatura en condiciones no ionizantes.

La Figura 6.2 muestra una representación de los fenómenos encontrados en los NG obtenidos.



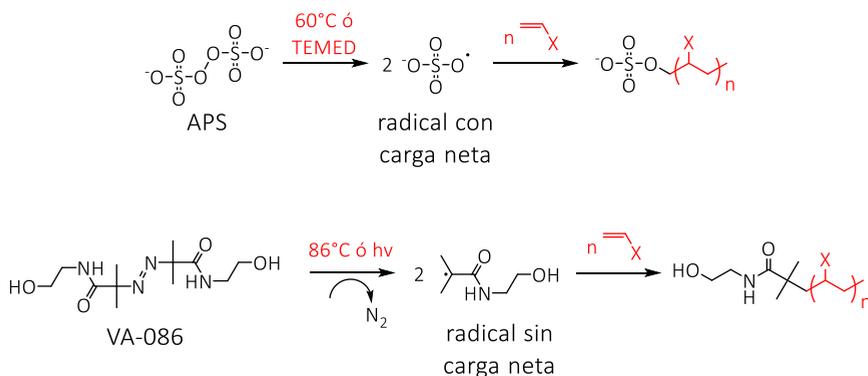
*Figura 6.2: respuesta de los NG a las condiciones del medio.*

Por otro lado, al comparar los resultados presentados en la Tabla 6.2, se puede observar la correlación entre la respuesta al pH y la cantidad de ABC presente en los NG. En condiciones básicas, donde se observa el efecto de los grupos carboxilato, se notó un aumento de tamaño

progresivo a medida que se aumentó la proporción de monómero dendrítico en el NG.

Continuando con el estudio de estos materiales inteligentes prometedores, y con el objetivo de minimizar el efecto de los grupos introducidos en la matriz por el iniciador, en este caso grupos sulfatos provenientes de APS, se realizó la síntesis de NG NiPAm 100%, NiPAm-ABC 2%, NiPAm-ABC 5% y NiPAm-ABC 10% empleando 4% mol de BIS y 5% mol de VA-086 como sistema iniciador de la polimerización.

A diferencia de APS, el iniciador radicalario VA-086 genera radicales sin carga neta ni posibilidad de ionización en las condiciones de trabajo, tal como lo muestra el Esquema 6.2.



*Esquema 6.2: Formación de radicales y etapa de iniciación de la polimerización empleando APS y VA-086.*

Manteniendo las proporciones de monómero, entrecruzante y surfactante utilizados, se prepararon los NG que presentan la misma composición que la mostrada en el Esquema 6.1.

El análisis espectroscópico por FT-IR y RMN, arrojaron resultados semejantes a los mostrados para los NG análogos sintetizados con APS.

Los NG sintetizados con VA-086 presentaron similar comportamiento frente al cambio de temperatura y pH del medio que los NG preparados con APS, por lo que no se analizan nuevamente aquí. La única diferencia encontrada, y que fue indicio indirecto de la ausencia de los grupos sulfato en la estructura del polímero, fue que a bajos valores de pH, en donde ABC se encuentra totalmente protonado, los NG tendieron a agregarse, dando tamaños superiores a los 1000 nm. Este hecho fue atribuido a la ausencia de carga impartida por APS, lo que generó que los NG no se repelieran entre sí y las fuerzas polímero-polímero logren desestabilizar la suspensión coloidal, dando como resultado la agregación del sistema.

Al haber empleado el iniciador VA-086 en lugar de APS, se eliminó la presencia de carga ajena a los monómeros en los NG sintetizados. Esto facilitó los estudios de determinación de las temperaturas de transición de fase en los NG.

Debido a que las soluciones coloidales de estos NG tienden a pasar de incoloras a blanquecinas cuando superan la temperatura de transición de fase del material, se midió la transmitancia de luz visible de estas muestras a  $\lambda = 500$  nm. Así, se determinaron las temperaturas de punto de enturbiamiento o “clouding point temperature (T<sub>cp</sub>)”<sup>23</sup>, las cuales son indicativas como temperaturas de transición de fase para los NG. Los resultados se muestran en la Tabla 6.3.

Tabla 6.3: temperaturas de enturbiamiento de los NG sintetizados.

| NG            | T <sub>cp</sub> (°C) |        |
|---------------|----------------------|--------|
|               | pH 3,0               | pH 5,0 |
| NiPAm 100%    | 33,8                 | 33,8   |
| NiPAm-ABC 2%  | 30,4                 | 36,2   |
| NiPAm-ABC 5%  | 27,0                 | 35,5   |
| NiPAm-ABC 10% | 21,4                 | 31,8   |

Las mediciones de T<sub>cp</sub> se realizaron en soluciones bufferizadas de fuerza iónica controlada a los pH mostrados en la tabla. Se obtuvieron valores de T<sub>cp</sub> para todas las condiciones, excepto para los copolímeros a pH 7,4, ya que en esas condiciones las muestras presentaron opalescencia a temperatura ambiente, siendo imposible determinar un cambio en la transmitancia de la muestra.

No obstante, y como era de esperar, los NG de NiPAm 100% presentaron valores de T<sub>cp</sub> semejantes en las condiciones experimentales. Para los NG copoliméricos, existieron dos factores que permitieron la interpretación de los valores observados.

La hipótesis barajada antes de realizar estas mediciones, sostenía que a mayor concentración relativa de ABC, el valor de T<sub>cp</sub> debía aumentar conforme aumentaba la cantidad de grupos polares en el copolímero, tal como sucede con monómeros clásicos<sup>24,25</sup>. Por el contrario, a pH 3 donde ABC se encuentra totalmente protonado, se observó que a medida que aumentaba la cantidad del monómero dendrítico incorporado, el valor de T<sub>cp</sub> disminuía, en contraposición a lo esperado. Dados los resultados y visto que se oponían a lo planteado, se indagó más profundamente en el comportamiento de estos copolímeros dendríticos.

Una visión más detallada de los resultados, dio lugar a la siguiente hipótesis. Dado que el proceso de colapso de los NG, como así también de los macrogeles, involucra el balance hidrofílico-hidrofóbico entre las cadenas de NiPAm con las moléculas de agua u otras cadenas de NiPAm, respectivamente, se estudió el posible efecto del agregado de ABC en la matriz polimérica sobre este balance hidrofílico-hidrofóbico. En el sistema NiPAm 100%, y tal como se mencionó antes, por debajo de la temperatura de transición del polímero, prevalecen las interacciones puente hidrógeno entre los grupos amida y las moléculas de agua del medio. A temperaturas superiores, la energía es la suficiente como para debilitar estas interacciones, y el material empieza a colapsar, debido a que

comienzan a prevalecer la atracción entre los grupos isopropilo presentes en la red, dando la consiguiente expulsión del agua presente en su interior.

La presencia de ABC introduce en el polímero grupos carboxilo, los que pueden interactuar con los grupos amida de NiPAm, mediante la formación de enlaces del tipo puente hidrógeno, tal como se esquematiza en la Figura 6.3. De esta manera, existen menos interacciones amida-agua presentes en el NG, lo que se traduce en una menor energía necesaria para provocar el colapso de la red. A medida que aumenta la concentración de ABC en el producto, la disminución de las interacciones hidrofílicas da lugar a una mayor importancia de la componente hidrofóbica, que tiende a llevar al colapso del material. Esto se traduce en temperaturas de transición más bajas a medida que aumenta la cantidad de ABC en el material.

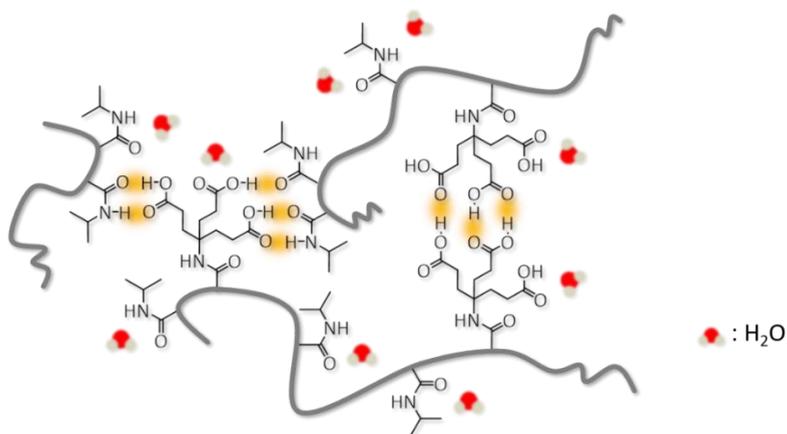
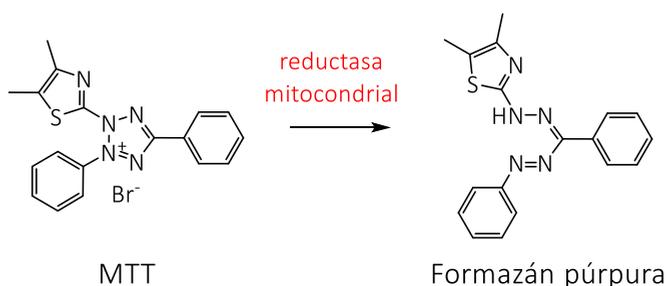


Figura 6.3: interacciones puente hidrógeno entre ABC y NiPAm.

Por otro lado, el cambio de pH generó un aumento de polaridad en la red, debido a la deprotonación de los grupos ácido, provocando en general,

un aumento en los valores de la  $T_{cp}$ , y siguiendo el comportamiento esperado que se había planteado en la hipótesis de trabajo<sup>21,24,26</sup>.

Una vez que los NG fueron caracterizados física y químicamente, y considerando los antecedentes de biocompatibilidad de los componentes que forman parte de los mismos<sup>23,27,28</sup>, se evaluaron estos sistemas para potenciales aplicaciones en el área de la biomedicina. Primeramente, se realizaron los estudios de citotoxicidad de los mismos empleando el ensayo de bromuro de 3-[4,5-dimetiltiazol-2-il]-2,5-difenil-tetrazolio, más conocido por sus siglas en inglés MTT<sup>29</sup>. En este ensayo se puede medir la actividad metabólica celular a partir del ensayo colorimétrico. El MTT, de coloración amarilla, es reducido por la reductasa mitocondrial a (E,Z)-5(4,5-dimetiltioazol-2-il)-1,3-difenilformazán (formazán púrpura) correspondiente, dando una coloración violácea, tal como muestra el Esquema 6.3. Esta reducción es sólo posible en células vivas, donde la reductasa mitocondrial está activa. El estudio espectrofotométrico proporciona información que puede relacionarse directamente con el número de células que conservan actividad metabólica, siendo este un parámetro indirecto de la viabilidad celular antes y después de su cultivo con el agente de interés, en este caso, diferentes concentraciones de NG.



*Esquema 6.3: especies involucradas en el ensayo de citotoxicidad por MTT.*

Este ensayo arrojó los resultados que se presentan en la Figura 6.4.

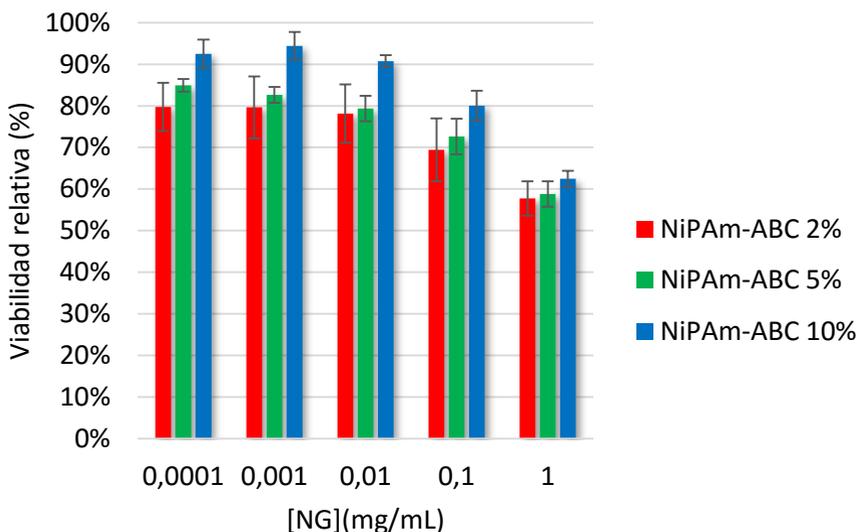


Figura 6.4: viabilidades relativas determinadas por ensayo de MTT.

Estos resultados mostraron que los NG sintetizados empleando ABC como comonomero presentan viabilidades celulares relativas de más del 50% en el rango de concentraciones de 0,0001 a 1 mg mL<sup>-1</sup>. En este sentido, los NG copoliméricos en concentraciones de 0,0001 a 0,1 mg mL<sup>-1</sup>, con viabilidades relativas cercanas o superiores al 70% pueden ser considerados como potenciales materiales no tóxicos, según la normativa ISO 10993-5<sup>30</sup>. Este resultado posicionó a los materiales obtenidos como buenos candidatos para posibles usos en aplicaciones en áreas relacionadas a la biomedicina.

## Cargado y liberación de *cis*-Pt

Dados estos resultados, se evaluó el comportamiento de NiPAm-ABC 5% como sistema de liberación controlada de un fármaco antineoplásico modelo, como lo es *cis*-Pt. La Figura 6.5 muestra los resultados obtenidos.

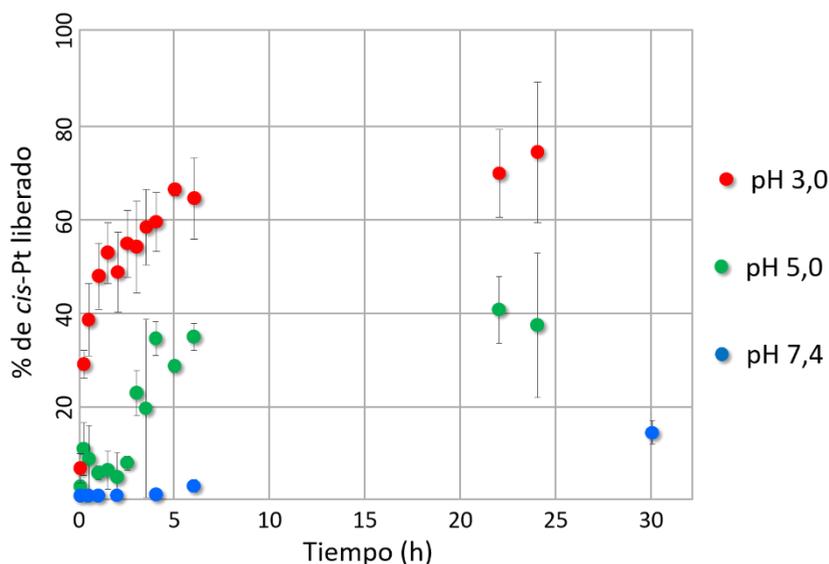


Figura 6.5: liberación de *cis*-Pt para NiPAm-ABC 5%.

Este ensayo mostró que a valores de pH de 7,4, el sistema NiPAm-ABC 5% cargado con *cis*-Pt, se presentó estable y sin liberación significativa del fármaco. Esto se adjudicó a la coordinación del centro metálico con los grupos carboxilato pertenecientes a ABC. A pH 5,0 el resultado observado fue una liberación de aproximadamente el 60% de la droga cargada desde los NG en solución, en aproximadamente 5 horas. Este hecho fue atribuido a la protonación parcial de los grupos ácido de ABC y la consiguiente disociación del complejo con el centro metálico.

Por su parte, a pH 3,0 donde se encuentran totalmente protonados los grupos ácido, la liberación de *cis*-Pt se vio disminuida a aproximadamente un 50% de lo observado para pH 5. En este sentido, la pérdida total de carga en el sistema por la protonación de los correspondientes grupos ácido, ocasionó la formación de agregados o clusters de NG, desde los cuales el fármaco no puede difundir eficazmente hacia el medio. La Figura 6.6 muestra una representación de lo observado para la liberación de *cis*-Pt por parte de NiPAm-ABC 5%.

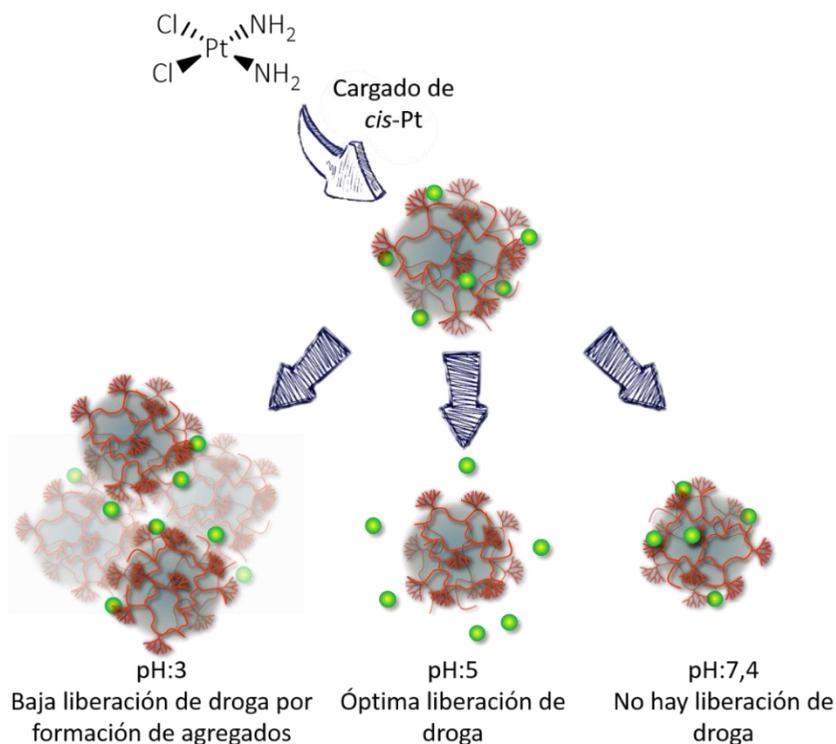


Figura 6.6: liberación de *cis*-Pt en función de pH del medio.

Estos resultados posicionan a este material como prometedor sistema de liberación controlada de *cis*-Pt destinado para farmacoterapia oncológica.

De esta manera, si se considera un valor de pH de 7,4, semejante al encontrado en condiciones fisiológicas, el sistema no presenta liberación significativa del fármaco cargado, mientras que a pH 5,0 un valor de acidez semejante al encontrado en endosomas o lisosomas celulares, la liberación de la molécula de interés se ve favorecido.

## Conclusiones Parciales

En esta sección del trabajo de Tesis, se logró obtener con éxito una serie de materiales en la escala nanométrica, con respuesta dual a estímulos, tal como lo fueron los NG basados en NiPAm-co-ABC. Estos NG dendronizados presentaron interesantes respuestas a las condiciones del medio circundante, a la vez que mostraron baja toxicidad determinada por ensayos de MTT. A su vez, y dadas las características de los mismos, se evaluó en este trabajo su empleo como posibles sistemas de liberación controlada de fármacos antineoplásicos, en particular de *cis*-Pt, posicionándolos como prometedores sistemas para este fin.

Además, es importante destacar que en esta parte del trabajo se realizó una fuerte integración de los conceptos y contenidos anteriormente desarrollados para otros sistemas, a la vez que se incorporaron nuevos conocimientos desde el área de la nanociencia.



## *Capítulo 7*

---

*Nanogeles semi interpenetrados  
dendronizados con multifuncionalidad  
controlada*

## Planteo Experimental

Siguiendo con el objetivo de llevar a la escala nanométrica los materiales con propiedades más promisorias obtenidos en el desarrollo de esta Tesis, se procedió a estudiar la incorporación de ABC como polímero semi interpenetrado en NG de NiPAm 100%. El objetivo principal fue obtener NG termosensibles de NiPAm, para realizar posteriormente la polimerización del monómero dendrítico ABC. Estos materiales *semi* interpenetrados combinarían la termorespuesta dada por NiPAm, mientras que la capacidad de colapso de la red modularía la exposición de las estructuras dendríticas presentes en el interior del NG.

## Métodos

### Preparación de NG NiPAm 100%

Los NG de NiPAm 100% preparados con 1% mol de BIS, 1 mg mL<sup>-1</sup> de SDS y 5% mol de APS o VA-086, según el caso, se obtuvieron según la metodología descrita en el Capítulo 6.

### Preparación NG *semi* IPN NiPAm 100% + poli(ABC)

En un balón, una dispersión acuosa de 20 mg mL<sup>-1</sup> de NG NiPAm 100% se mezcló con 13%, 15% o 26% de ABC en relación a la masa total de NG NiPAm 100% utilizada, según el material sintetizado. El iniciador APS o VA-086 se agregó en concentración de 1 mg mL<sup>-1</sup> de mezcla de reacción, y la solución se dejó homogeneizar a temperatura ambiente, a la vez que se burbujeó Ar por 15 minutos con agitación vigorosa. Luego de 4 horas bajo atmósfera de Ar, se activó la reacción mediante el agregado de 0,1 mL de

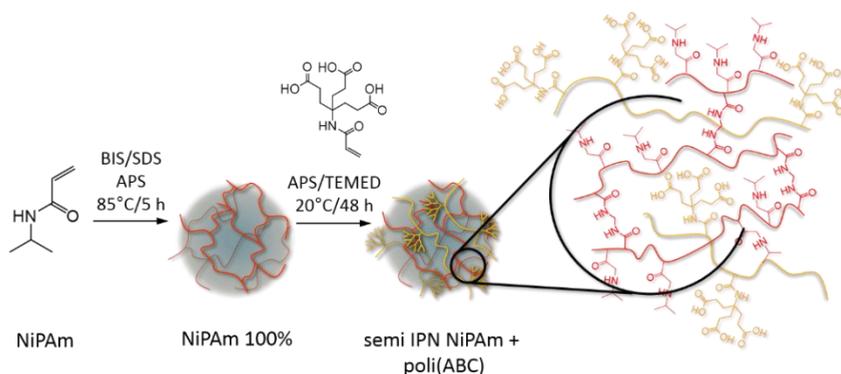
TEMED por mililitro de mezcla de reacción para sistemas iniciados por APS, o por irradiación por 15 minutos con una lámpara de amplio espectro para sistemas iniciados por VA-086. Después de 48 horas de reacción a temperatura ambiente, los NG *semi* IPN se purificaron mediante diálisis (membrana 50 kDa) en agua destilada por 7 días, realizando cambio del solvente de lavado cada 24 horas. Luego de los lavados, los NG se liofilizaron, obteniéndose un sólido blanco.

## Resultados y Discusión

Para los NG de NiPAm 100% sintetizados en primera instancia, se emplearon 1% de BIS, 5% de APS y  $1 \text{ mg mL}^{-1}$  de SDS, tal como representa la primera entrada de la Tabla 6.1 presentada en el Capítulo 6. De esta manera, se obtuvieron NG homopoliméricos, de un tamaño de 123 nm determinado por DLS y polidispersidad 0,157. Esto indicó la factibilidad de obtención de estos nanomateriales por la técnica de polimerización por precipitación ya discutida.

### NG *semi* IPN NiPAm 100% + poli(ABC)

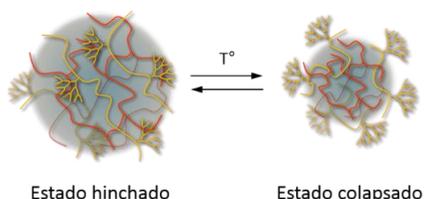
La incorporación del polímero dendrítico en forma de cadenas semi interpenetradas en el interior de los NG de NiPAm 100%, implicó la polimerización de ABC en el interior de los mismos. Para este primer caso, se utilizó 15% en masa de monómero ABC en relación a la masa total de NG empleada en la síntesis, a la vez que la polimerización del mismo se realizó mediante la cupla redox APS/TEMED. El Esquema 7.1 representa el proceso de interpenetración realizado en este punto.



Esquema 7.1: formación de NG *semi* IPN NiPAm + poli(ABC).

En este caso, al igual que el presentado en el Capítulo 5, la incorporación de las moléculas de ABC se realizó mediante el crecimiento de cadenas poliméricas en el interior del NG sin generar uniones covalentes con la estructura del NG. Las nuevas cadenas de poli(ABC) formadas quedan ancladas o sostenidas dentro por puntos de enredo, sin reaccionar químicamente con la red de NiPAm 100%. Al ser dos polímeros, en este caso una red y un polímero lineal, idealmente yuxtapuestos, las propiedades fisicoquímicas del material final resultan de la sumatoria de las propiedades de cada material por separado. A diferencia de esto, los materiales copoliméricos, resultan en sistemas con propiedades distintas a la de sus homólogos homopoliméricos, por lo que este enfoque permitió evaluar una nueva metodología de incorporación del monómero dendrítico.

La hipótesis de trabajo planteó la posibilidad de lograr un cambio en la multifuncionalidad del material como consecuencia de una transición de fase gatillada por la temperatura. En este sentido, a temperaturas por debajo de la de transición de fase, el NG termosensible de NiPAm 100% se encontraría hinchado y mantendría “oculto” al polímero dendronizado en su interior. Al aumentar la temperatura y provocar el colapso, el polímero dendronizado quedaría expuesto al medio con la consiguiente extensión de las propiedades dendríticas a toda la superficie del NG. La Figura 7.1 muestra una representación esquemática del comportamiento buscado.



*Figura 7.1: cambio de la multifuncionalidad del NG semi IPN termosensible.*

La caracterización del NG NiPAm 100%, realizada tanto por FT-IR como por  $^1\text{H-RMN}$ , fue descrita en el Capítulo anterior. Por ambas técnicas se observaron las señales típicas de este material, corroborándose que la estructura química del NG. Como se mencionó al inicio de esta sección, los tamaños fueron determinados por DLS arrojó valores de 123 nm a 20°C para el lote realizado en esta instancia, con índices de polidispersidad bajos, confirmándose así la obtención de NG monodispersos. Los tamaños ligeramente mayores a los encontrados con anterioridad se atribuyeron a la obtención de una red más laxa, dada por el menor porcentaje de agente entrecruzante empleado.

Los NG *semi* interpenetrados con poli(ABC) fueron analizados mediante técnicas espectroscópicas. En primera instancia, la comparación entre los espectros FT-IR a temperatura ambiente (por debajo de la transición de fase) de los NG NiPAm 100% y los NG *semi* IPN mostró que estos últimos presentaron las señales características del NiPAm, además de una señal débil en forma de hombro a  $1715\text{ cm}^{-1}$ . Para identificar la procedencia de esta señal, se realizó la substracción digital del espectro del homopolímero sobre el de los NG *semi* IPN, es decir, al espectro correspondiente al producto *semi* IPN se le sustrajo el espectro de NiPAm 100%. La Figura 7.2 muestra los resultados obtenidos.

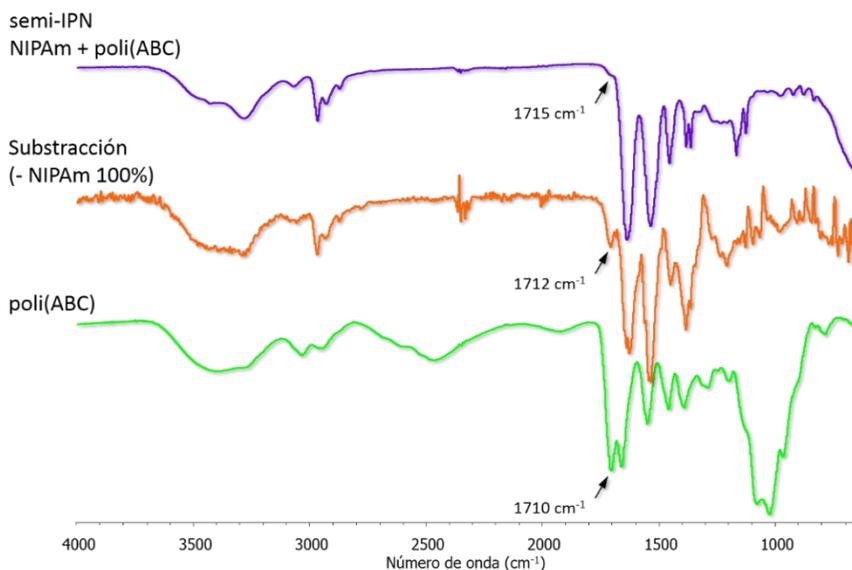


Figura 7.2: substracción digital y espectro de NG semi IPN.

En el espectro logrado luego de la substracción digital se hizo claramente visible una banda a  $1712\text{ cm}^{-1}$ , atribuida al estiramiento del enlace carbonilo de los grupos ácido presentes en el polímero poli(ABC). Este análisis mostró la presencia del polímero dendronizado en el interior del NG.

El análisis por  $^1\text{H-RMN}$ , presentó la ventaja de poder estudiar sistemáticamente el comportamiento de la muestra variando la temperatura de adquisición del espectro. De este modo, se tomaron los correspondientes espectros a  $25$  y  $45^\circ\text{C}$ , por debajo y por encima de la temperatura de transición de fase teórica del sistema cercana a  $32^\circ\text{C}^{23}$ , respectivamente. A  $25^\circ\text{C}$  el espectro de los NG *semi* IPN presentó un patrón característico dado por las señales de NIPAm discutidas en Capítulos anteriores, y la aparición de una señal poco definida y en forma de hombro cercana a  $2,2\text{ ppm}$ , atribuida a los protones de los grupos

metilenos internos de ABC. Si bien este resultado no fue contundente, el análisis a 65°C (por encima de la temperatura de transición de fase del NG) permitió arribar a resultados interesantes. La Figura 7.3 muestra los espectros obtenidos en estas condiciones.

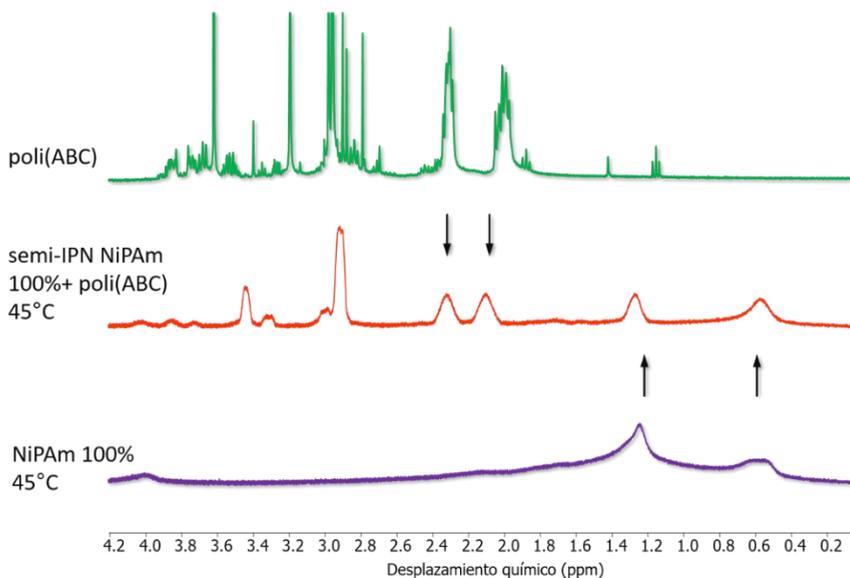


Figura 7.3:  $^1\text{H-RMN}$  obtenidos a 45°C para los materiales obtenidos.

En primera instancia, se observó un cambio pronunciado en los espectros de los NG de NiPAm 100% realizados a 20 y 45°C. En este sentido, las interacciones entre los grupos isopropilo de las cadenas de NiPAm encontradas en el gel colapsado, son las responsables del cambio en el aspecto general del mencionado espectro, dado por el cambio de entorno químico que sufren los protones de la estructura.

En el espectro correspondiente a los NG *semi* IPN a 45°C se apreciaron tanto las señales correspondientes al NG de NiPAm 100% colapsado (señales anchas a 0,5 y 1,2 ppm) junto con la aparición de nuevas señales

a 2,1 y 2,3 ppm, las que se atribuyeron prioritariamente a los protones de los grupos metileno internos del polímero poli(ABC), tal como se muestra en la Figura 7.3.

Este resultado evidenciaría la hipótesis planteada en un principio. El colapso del NG generaría la exposición del polímero dendronizado sobre la superficie del NG, ocasionando un aumento de la multifuncionalidad del mismo.

Para corroborar los resultados obtenidos hasta este punto, se realizaron mediciones de potencial Zeta a diferentes temperaturas, nuevamente una por debajo y otra por encima de la temperatura de transición de fase del NG de NiPAm 100%. La Tabla 7.1 muestra los resultados obtenidos, los que fueron tomados en solución bufferizada de pH 7,4, donde los grupos ácido de ABC se encuentran como carboxilato.

*Tabla 7.1: potencial Zeta determinado para los productos obtenidos.*

| NG                                   | Potencial Zeta (mV) |       |
|--------------------------------------|---------------------|-------|
|                                      | 25°C                | 45°C  |
| NiPAm 100%                           | -2,8                | -18,9 |
| NiPAm + poli(ABC) <i>semi</i><br>IPN | -4,1                | -20,4 |

Si bien se observó un aumento en valor absoluto del potencial Z en las muestras luego del proceso de interpenetración, atribuido a la presencia de grupos carboxilato en el NG, los resultados analizados en función del cambio de temperatura no fueron concluyentes. De acuerdo a los resultados presentados, los NG homopoliméricos poseen carga neta negativa. Este resultado no esperado para sistemas sin grupos ionizables como los NG de NiPAm 100%, permitió verificar la hipótesis la presencia de cargas en el NG aportada por el iniciador APS. Al ser la medición de potencial Zeta una relación proporcional de densidad de carga en función

del diferencial de superficie, fue claro que la disminución de tamaño de los NG por el aumento de la temperatura, con la conservación de la carga impartida por el APS, generó un aumento en el valor absoluto del potencial Zeta a 45°C.

Dado que esta tendencia se observó tanto en el NG control (NiPAm 100%), como en el NG semi IPN, no se pudo llegar a resultados concluyentes en este punto. A fin de minimizar este inconveniente y optimizar la síntesis de NG y de los productos interpenetrados, se empleó VA-086 como iniciador, tal como se mostró en el Capítulo anterior.

Primeramente, la síntesis del NG homopolimérico NiPAm 100% se llevó a cabo siguiendo la metodología sintética mostrada en la sección experimental y utilizando 4% BIS como agente entrecruzante, 5% del iniciador VA-086 activado por irradiación por 15 minutos con lámpara de amplio espectro y 0,3 mg mL<sup>-1</sup> SDS.

El proceso de interpenetración se llevó a cabo siguiendo la misma metodología presentada anteriormente, empleando 13% y 26% de masa de ABC en relación a la masa de NG utilizada en cada caso, y el iniciador utilizado en este caso también fue VA-086. De esta manera los productos obtenidos se denominaron NG *semi* IPN 13% ABC y NG *semi* IPN 26% ABC, respectivamente.

Dada la composición empleada, los productos obtenidos presentaron espectros de FT-IR y <sup>1</sup>H-RMN semejantes a los de las Figuras 7.2 y 7.3, tanto a temperaturas por debajo como por encima de su transición de fase teórica de 32°C, en el caso de estos últimos. En este sentido, la obtención de los sistemas nanoscópicos interpenetrados se logró con éxito mediante una metodología sencilla y reproducible, mediante el empleo de VA-086 como iniciador radicalario fotoinducido.

Obtenidos y caracterizados los nuevos NG *semi* IPN, se realizaron las determinaciones de potencial Zeta. La Figura 7.4 muestra los resultados de la determinaciones de potencial Zeta a pH 7,4 para NiPAm 100% y para

los dos sistemas interpenetrados NG *semi* IPN 13% ABC y NG *semi* IPN 26% ABC, y para este último a pH 3 y 7,4.

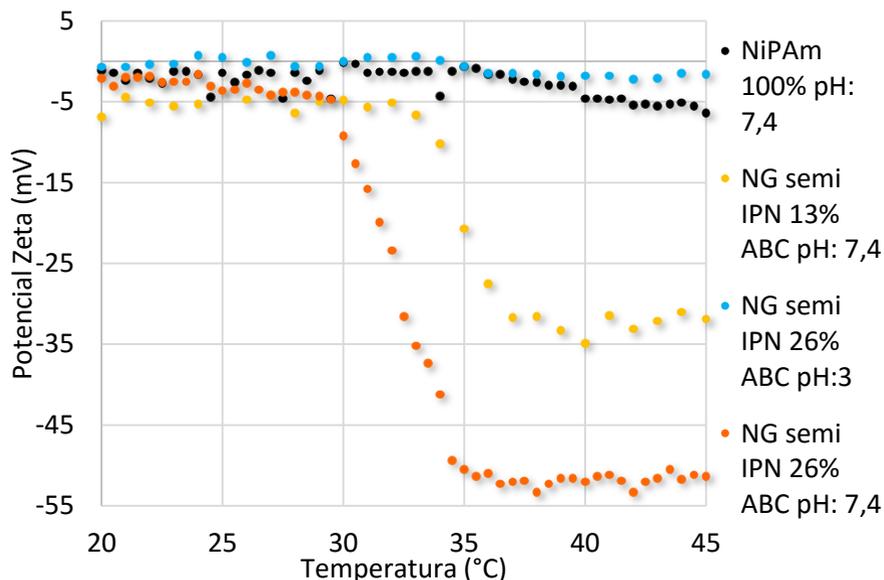


Figura 7.4: gráfico de potencial Zeta versus temperatura para los productos sintetizados.

Tal como se observa en el gráfico, el comportamiento de los NG *semi* IPN se correspondió con el esperado, dando validez a la hipótesis planteada anteriormente.

Primeramente, el uso de VA-086 no dejó carga neta sobre los NG, tal como lo hizo ocurriera con el iniciador APS. Esto se manifestó claramente en los potenciales determinados tanto para los NG de NiPAm 100% como para los NG *semi* IPN, a temperaturas por debajo de su transición de fase. La ausencia de carga en la superficie del NG arrojó valores cercanos a 0 mV. Para los sistemas *semi* IPN, se evaluó el efecto del cambio de temperatura, como así también, el efecto del cambio del pH del medio circundante. Tanto para el sistema NG *semi* IPN 13% ABC, como para el

NG *semi* IPN 26% ABC, se observó una clara disminución del potencial acorde aumentó la temperatura a pH 7,4. Esto tiene correlación con el colapso del NG y la coincidente exposición de los grupos carboxilato provenientes de poli(ABC), lo que generó la aparición de carga neta negativa en la superficie de la nanopartícula. También se evidenció la correlación entre la cantidad de ABC en los productos *semi* IPN y la magnitud del potencial Zeta observado. Esto surgió como consecuencia natural de la cantidad de unidades carboxilato provenientes de ABC presentes en los materiales estudiados.

Como control, la medición de potencial Zeta a pH 3 para el NG *semi* IPN 26% ABC, mostró una tendencia similar a la observada en NiPAm 100% con el cambio de temperatura. En este caso, también se generó la expulsión y exposición del polímero dendronizado, pero debido a que el mismo se encontró a un pH por debajo del pKa del dendrón ABC, se presentó en su forma protonada y sin posibilidad de ionización, por lo que no se manifestó cambio de la carga superficial del sistema. La Figura 7.5 resume esquemáticamente lo planteado en esta instancia.

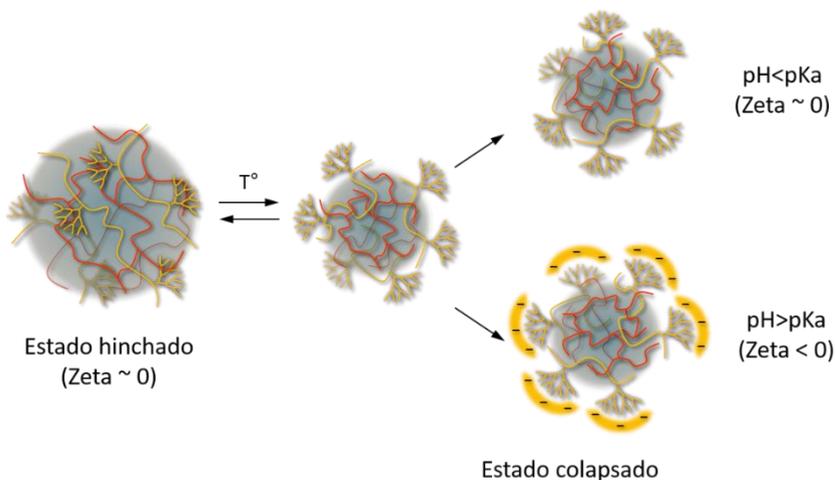


Figura 7.5: cambio en la multifuncionalidad esperado para los NG *semi* IPN.

Los resultados obtenidos permitieron verificar la hipótesis planteada en un principio, de manera que se corrobora la obtención de materiales *semi* IPN, con cambio de la multifuncionalidad desencadenado por transiciones de fase como consecuencia de los cambios en la temperatura del medio circundante.

Estos resultados significaron un gran avance en materia de síntesis y caracterización de sistemas nanoscópicos interpenetrados dendronizados. Si bien aún permanecen en estudio estos materiales, la primera aproximación a su síntesis y caracterización resultó ampliamente positiva, más aun, no encontrándose antecedentes bibliográficos a la fecha de sistemas similares. Extrapolando las potenciales aplicaciones de los NG copoliméricos estudiados en el Capítulo anterior, es factible evaluar estos sistemas de tipo *semi* IPN con características dendríticas como sistemas de liberación controlada de fármacos de interés. En este sentido, se intentará evaluar la capacidad de cargado y liberación de fármacos anticancerígenos modelo, que puedan interactuar con los grupos carboxilatos, como por ejemplo doxorubicina o metotrexato, entre otras.

## Conclusiones Parciales

En esta sección del trabajo se logró de manera exitosa la síntesis y caracterización de sistemas *semi* interpenetrados dendronizados de tamaños nanoscópicos. Estos materiales altamente novedosos, de los que no se conocen referencias bibliográficas se realizaron mediante interpenetración secuencial, partiendo de NG de NiPAm 100%. La termosensibilidad dio lugar a que, luego del colapso del NG, la exposición del polímero dendronizado provoca un cambio en la multifuncionalidad del sistema. Se logró poner a punto la metodología de síntesis y caracterización, y, dadas las propiedades de estos materiales, se plantean como proyecciones su evaluación como sistemas de liberación controlada de fármacos de interés biomédico, tarea que por su tiempo y arduo trabajo necesario no fue posible de completar en el transcurso finito de esta Tesis Doctoral.

## Referencias

- (1) Hamidi, M.; Azadi, A.; Rafiei, P. *Adv. Drug Deliv. Rev.* **2008**, *60* (15), 1638–1649.
- (2) Sisson, A. L.; Haag, R. *Soft Matter* **2010**, *6* (20), 4968–4975.
- (3) Fang, J.; Nakamura, H.; Maeda, H. *Adv. Drug Deliv. Rev.* **2011**, *63* (3), 136–151.
- (4) Torchilin, V. P. In *Drug Delivery SE - 1*; Schäfer-Korting, M., Ed.; Handbook of Experimental Pharmacology; Springer Berlin Heidelberg, **2010**; 3–53.
- (5) Abandansari, H. S.; Nabid, M. R.; Rezaei, S. J. T.; Niknejad, H. *Polymer*, **2014**, *55* (16), 3579–3590.
- (6) Peng, J.; Qi, T.; Liao, J.; Chu, B.; Yang, Q.; Li, W.; Qu, Y.; Luo, F.; Qian, Z. *Biomaterials* **2013**, *34* (34), 8726–8740.
- (7) Ramos, J.; Imaz, A.; Forcada, J. *Polym. Chem.* **2012**, *3*, 852–856.
- (8) Molina, M.; Giubudagian, M.; Calderón, M. *Macromol. Chem. Phys.* **2014**, *215* (24), 2414–2419.
- (9) Giubudagian, M.; Asadian-Birjand, M.; Steinhilber, D.; Achazi, K.; Molina, M.; Calderón, M. *Polym. Chem.* **2014**, *5* (24), 6909–6913.
- (10) Jochum, F. D.; Theato, P. *Chem. Soc. Rev.* **2013**, *42* (17), 7468–7483.
- (11) Kang, H.; Trondoli, A. C.; Zhu, G.; Chen, Y.; Chang, Y.-J.; Liu, H.; Huang, Y.-F.; Zhang, X.; Tan, W. *ACS Nano* **2011**, *5* (6), 5094–5099.
- (12) Tian, Y.; Zheng, J.; Tang, X.; Ren, Q.; Wang, Y.; Yang, W. *Part. Part. Syst. Charact.* **2015**, *32* (5), 547–551.
- (13) Socoliuc, V.; Vékás, L.; Turcu, R. *Soft Matter* **2013**, *9*, 3098–3105.
- (14) Sun, H.; Yu, J.; Gong, P.; Xu, D.; Zhang, C.; Yao, S. *J. Magn. Magn. Mater.* **2005**, *294* (3), 273–280.

- (15) Calderón, M.; Welker, P.; Licha, K.; Fichtner, I.; Graeser, R.; Haag, R.; Kratz, F. *J. Control. Release* **2011**, *151* (3), 295–301.
- (16) Sierra-Martin, B.; Fernandez-Barbero, A. *Soft Matter* **2015**, DOI: 10.1039/c5sm01789k Multifunctional.
- (17) Ganta, S.; Devalapally, H.; Shahiwala, A.; Amiji, M. *J. Control. Release* **2008**, *126* (3), 187–204.
- (18) Pelton, R. H.; Chibante, P. *Colloids and Surfaces* **1986**, *20* (3), 247–256.
- (19) Haxton, K. J.; Burt, H. M. *Dalton Trans.* **2008**, No. 43, 5872–5875.
- (20) Cuggino, J. C.; Strumia, M. C.; Alvarez Igarzabal, C. I. *React. Funct. Polym.* **2011**, *71* (4), 440–446.
- (21) Rzaev, Z. M. O.; Dinçer, S.; Pişkin, E. *Prog. Polym. Sci.* **2007**, *32* (5), 534–595.
- (22) Cuggino, J.; Contreras, C. B.; Jimenez-Kairuz, A.; Maletto, B. A.; Alvarez Igarzabal, C. I. *Mol. Pharm.* **2014**, *11* (7), 2239–2249.
- (23) Schild, H. G. *Prog. Polym. Sci.* **1992**, *17* (2), 163–249.
- (24) Liu, R.; Fraylich, M.; Saunders, B. R. *Colloid Polym. Sci.* **2009**, *287* (6), 627–643.
- (25) Yang, L.; Liu, T.; Song, K.; Wu, S.; Fan, X. *J. Appl. Polym. Sci.* **2013**, *127* (6), 4280–4287.
- (26) Burmistrova, A.; Richter, M.; Eisele, M.; Üzümlü, C.; von Klitzing, R. *Polymers*, **2011**, *3*, 1575–1590.
- (27) Fernandez, L.; Calderón, M.; Martinelli, M.; Strumia, M.; Cerecetto, H.; González, M.; Silber, J. J.; Santo, M. *J. Phys. Org. Chem.* **2008**, *21* (12), 1079–1085.
- (28) Zintchenko, A.; Ogris, M.; Wagner, E. *Bioconjug. Chem.* **2006**, *17* (3), 766–772.
- (29) Alley, M. C.; Scudiero, D. A.; Monks, A.; Hursey, M. L.; Czerwinski, M. J.; Fine, D. L.; Abbott, B. J.; Mayo, J. G.; Shoemaker, R. H.; Boyd, M. R. *Cancer Res.* **1988**, *48*, 589–601.

- (30) International standards ISO 10993-5. Biological evaluation of medical devices. Part 5: Tests for in vitro cytotoxicity. **2009**.





*Anexo*

---

*Campañas Antárticas de Verano*

## Antecedentes y Generalidades

Los bifenilos policlorados (*PCBs*), dibenzo-*p*-dioxinas policloradas (*PCDDs*) y dibenzo-*p*-furanos policlorados (*PCDFs*), son contaminantes orgánicos persistentes (*COPs*), los cuales pueden clasificarse químicamente como familias de hidrocarburos aromáticos halogenados. Los mismos poseen estructuras similares y propiedades químicas y físicas equivalentes, como se muestra en la Figura V.I.

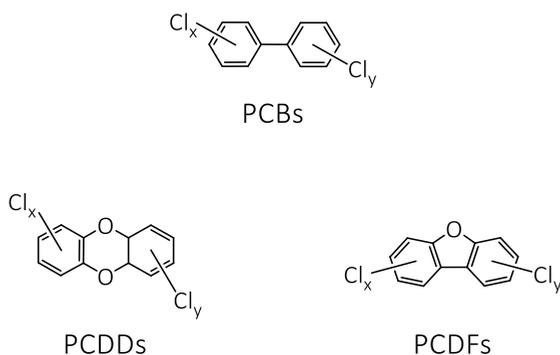


Figura V.I: estructura química general de los PCBs, PCDDs y PCDFs.

Estos compuestos forman cristales con altos puntos de fusión, muy baja solubilidad en agua, y baja volatilidad; son extremadamente estables en la mayoría de las condiciones ambientales, y por lo tanto persistentes en el ambiente<sup>1</sup>. También, y debido a que son liposolubles, tienden a bioacumularse en tejidos adiposos animales y pueden ingresar fácilmente en la cadena alimentaria<sup>2</sup>. Estos compuestos tienen su origen en el resultado de actividades antropogénicas y son emitidos en altos niveles por la incineración no controlada de residuos

sólidos urbanos, patológicos e industriales, así como en la producción de cloro y de cemento, procesos de fundición de metales, procesamiento de pulpa y elaboración de papel, procesos de refinado de petróleo, emisiones vehiculares e incendios, entre otros<sup>3-6</sup>. La toxicidad de los PCBs, PCDDs y PCDFs varía con la cantidad y la posición de los átomos de cloro en la molécula. Debido a su gran liposolubilidad, los efectos nocivos se dan en órganos ricos en tejidos grasos, como son el cerebro y el hígado, produciendo consecuencias como ralentización del neurodesarrollo, bilirubinemia, deterioro de funciones inmunológicas y reproductivas, afecciones en las vías endocrinológicas, especialmente en la glándula tiroides, como así también diversos tipos de cáncer<sup>7,8</sup>.

Otra clase de contaminantes presentes en diversos medios ambientales, de características similares en cuanto a su persistencia, solubilidad, toxicidad y sitios de bioacumulación, son los hidrocarburos poliaromáticos (*PAHs*). *PAHs* es un grupo de compuestos químicos que poseen desde dos a siete anillos aromáticos de benceno fusionados en diversas configuraciones. En condiciones normales son sólidos cristalinos, en los que la presión de vapor disminuye a medida que aumenta la cantidad de anillos condensados en la molécula. Son altamente lipofílicos y poseen una absorción UV característica y la mayoría pueden fluorescer. Los *PAHs* son resistentes a procesos térmicos y fisiológicos, por lo cual son extremadamente estables en condiciones normales y pueden ser transportados por aire, agua y sedimentos<sup>9</sup>. Estos compuestos son liberados a la atmósfera por combustiones incompletas de combustibles orgánicos, carbón, combustibles fósiles o quema de biomasa<sup>10</sup>. *PAHs* han sido, y continúan siendo, ampliamente estudiados debido a sus efectos nocivos sobre la salud humana y su posible acción mutagénica y cancerígena<sup>11</sup>. Un hecho importante de destacar es que la mayoría de los *PAHs* tienen la capacidad de atravesar la placenta, generado un alto riesgo de padecimiento de cáncer en bebés y madres embarazadas<sup>12</sup>.

Existe además una extensa variedad de pesticidas y plaguicidas, que son sustancias químicas o biológicas diseñadas para controlar agentes bióticos negativos para los procesos productivos, tales como plagas de insectos, ácaros, hongos, bacterias, nemátodos y ratas, entre otros. También se considera plaguicidas a productos reguladores del crecimiento de la plantas, atrayentes o repelentes de plantas y/o insectos, etc. Esta amplia variedad lleva a que tengan tiempos de vida que van desde unas pocas horas, como es el caso de la trifluralina (herbicida pre emergente), que es fotolizada rápidamente, hasta meses o incluso años como es el caso del diclorodifeniltricloroetano o los lindanos (insecticida piojicida) que, pueden permanecer por largos periodos y acumularse en el ambiente<sup>13,14</sup>.

Desde el año 2010, el grupo de trabajo del Prof. Dr. Gustavo Argüello, del que he formado parte y continúo colaborando de manera externa, participa en las “Campañas Antárticas de Verano” (CAVs) que se desarrollan a bordo del Buque Oceanográfico *ARA Puerto Deseado* en los meses de Enero a Abril. Durante estas Campañas, el buque navega desde la ciudad de Mar del Plata hacia Ushuaia, diferentes zonas de la Antártida y vuelve hacia Mar del Plata, realizando actividades científicas de proyectos apoyados por CONICET y otros organismos científicos.

El objetivo del trabajo desarrollado en las tres CAVs de la que he formado parte, ha sido la determinación de COPs en aire, específicamente plaguicidas organoclorados y PCBs, entre otros. A continuación se comentan muy brevemente algunos aspectos relacionados a las metodologías utilizadas y los resultados más importantes logrados.

Compartir estas pocas líneas sobre el trabajo realizado en una de las regiones más inhóspitas del planeta quizás no tenga relación alguna con el trabajo anteriormente presentado, pero forma parte del deseo de compartir una experiencia única, que fue realizada

Guido Noé Rimondino. Tesis Doctoral

en paralelo a esta Tesis Doctoral, y que sus enseñanzas tiene una magnitud comparable a las de esta última.

## Anexo: Campañas Antárticas de Verano



## ***Capítulo 8***

---

### ***Determinación de contaminantes orgánicos persistentes en ambiente aéreo***

## Planteo Experimental

La realización de las Campañas Antárticas de Verano tuvo como objetivo identificar y cuantificar diferentes contaminantes orgánicos en aire de ambientes prístinos y sin contaminación antropogénica, tal como lo es el Continente Antártico. La notoria estabilidad físico-química, y la consecuente elevada persistencia de estos compuestos en el ambiente, motivaron el estudio de su concentración en sitios alejados de las fuentes de emisión, a fin de corroborar su transporte por masas de aire y determinar el impacto de los mismos.

## Métodos

La metodología empleada implicó la toma de muestras de ambiente aéreo con equipos muestreadores de alto caudal, haciendo circular un determinado volumen de aire por filtros de fibra de cuarzo, y posteriormente por filtros de espuma de poliuretano. El material a analizar retenido en estos filtros, fue recuperado mediante técnicas de extracción con solventes orgánicos, según metodologías certificadas por la Agencia de Protección Ambiental de Estados Unidos<sup>15,16</sup>. Recolectados y tratados según la normativa, se analizó el contenido de cada muestra mediante cromatografía gaseosa con detector de captura electrónica (*ECD*).

## Resultados y Discusión

Brevemente se resumirán los resultados más importantes que surgieron de la realización de cuatro Campañas Antárticas, de las cuales he formado parte de tres de ellas.

Es importante destacar que este trabajo implicó la realización de las primeras mediciones de contaminantes aéreos en la región antártica por parte de grupos de investigación de la República Argentina.

También es interesante de comentar, que al inicio de cada campaña, se montó el laboratorio a bordo del buque, lo que implicó la instalación y puesta a punto de un cromatógrafo de gases junto con sus correspondientes tubos de gases comprimidos necesarios para el funcionamiento y líneas de alimentación, como así también los equipos muestreadores y todo el material requerido para la recolección, procesado y análisis de las muestras.

Respecto a los resultados obtenidos, se puede destacar que entre los contaminantes que se identificaron y cuantificaron en las diversas Campañas, se encontró Endosulfán I, uno de los plaguicidas de mayor venta en la Argentina y del cual no se registran datos de su cuantificación en la Antártida, además de su principal metabolito Endosulfán II. La concentración en el aire Antártico se cuantificó entre 2 y 5  $\text{pg m}^{-3}$ , siendo estos valores similares para ambas especies, lo que indicaría que no se encuentran fuentes de emisión de Endosulfan I en la región, tal como es de esperar. Las determinaciones realizadas a latitudes correspondientes al centro de nuestro país arrojan valores de hasta 525  $\text{pg m}^{-3}$  y una relación Endosulfán I/Endosulfán II de 8, evidenciando el movimiento de masas de aire desde el continente hacia el mar. Además se detectó la presencia de Lindano y Hexaclorobenceno que son analitos marcadores de contaminación muy utilizados en determinaciones atmosféricas. Nuestras determinaciones muestran que Hexaclorobenceno está siendo

usado aún en la región pampeana y norte de la Patagonia de nuestro país, no así Lindano, que presenta una distribución uniforme a lo largo de la transecta con leve incremento hacia latitudes menores.

Si bien estos resultados surgen de una recopilación de cuatro años, el desarrollo de las investigaciones en la región Antártica, se encuentra aún en un nivel inicial. Mediciones sistemáticas, evaluación de formas de ingreso de los contaminantes y estudios de laboratorio son algunas de las acciones que deben realizarse, direccionadas y focalizadas hacia un entendimiento más integrado de las consecuencias que tiene y puede tener la inclusión de COPs en estos ecosistemas.

## Referencias

- (1) Lohmann, R.; Jones, K. C. *Sci. Total Environ.* **1998**, *219* (1), 53–81.
- (2) Fernández-González, R.; Yebra-Pimentel, I.; Martínez-Carballo, E.; Simal-Gándara, J. *Crit. Rev. Food Sci. Nutr.* **2013**, 37–41.
- (3) De Assunção, J. V; Pesquero, C. R.; Bruns, R. E.; Carvalho, L. R. F. *Chemosphere*, **2005**, *58* (10), 1391–1398.
- (4) Abad, E.; Caiaach, J.; Rivers, J. *Chemosphere*, **1997**, *35* (3), 453–463.
- (5) Aristizábal, B.; Cobo, M.; Hoyos, A.; Montes de Correa, C.; Abalos, M.; Martínez, K.; Abad, E.; Rivera, J. *Chemosphere*, **2008**, *73*, 171–175.
- (6) Alvares, A. P.; Bickers, D. R.; Kappas, A. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* **1973**, *70* (5), 1321–1325.
- (7) Giesy, J. P.; Kannan, K. *Crit. Rev. Toxicol.* **1998**, *28* (6), 511–569.
- (8) Ghimpețeanu, O. M.; Militaru, M.; Scippo, M. L. *Food Control*, **2014**, *38* (1), 47–53.
- (9) Kim, K.-H.; Jahan, S. A.; Kabir, E.; Brown, R. J. C. *Environ. Int.* **2013**, *60*, 71–80.
- (10) Finlayson-Pitts, B. J. *Science*, **1997**, *276* (5315), 1045–1051.
- (11) Boström, C.-E.; Gerde, P.; Hanberg, A.; Jernström, B.; Johansson, C.; Kyrklund, T.; Rannug, A.; Törnqvist, M.; Victorin, K.; Westerholm, R. *Environ. Health Perspect.* **2002**, *110* (3), 451–488.
- (12) Whyatt, R. M.; Santella, R. M.; Jedrychowski, W.; Garte, S. J.; Bell, D. A.; Ottman, R.; Gladek-Yarborough, A.; Cosma, G.; Young, T. L.; Cooper, T. B.; Randall, M. C.; Manchester, D. K.; Perera, F. P. *Environ. Health Perspect.* **1998**, *106* (3), 821–826.
- (13) Foreman, W.; Majewski, M.; Goolsby, D.; Wiebe, F.; Coupe, R. *Sci. Total Environ.* **2000**, *248*, 213–226.

- (14) Bailey, R.; Barrie, L. A.; Halsall, C. J.; Fellin, P.; Muir, D. C. G. *J. Geophys. Res.* **2000**, *105* (D9), 11805–11811.
- (15) U.S. Environmental Protection Agency. *Method TO-13A: Compendium of Methods for the Determination of Toxic Organic Compounds in Ambient Air Second Edition Compendium Method TO-13A Determination of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons ( PAHs ) in Ambient Air Using Gas Chromatography / Mass Spectrom; 1999.*
- (16) U.S. Environmental Protection Agency. *Method TO-17: Compendium of Methods for the Determination of Toxic Organic Compounds in Ambient Air Second Edition Compendium Method TO-17 Determination of Volatile Organic Compounds in Ambient Air Using Active Sampling Onto Sorbent Tubes; 1999.*



## *Conclusiones Generales*

---

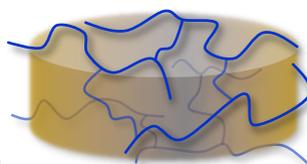
## Conclusiones Generales

A partir del desarrollo de este trabajo, se cumplieron con éxito los objetivos planteados en el principio de esta Tesis Doctoral. De esta manera, y de forma progresiva, se lograron las metas específicas de cada Parte del trabajo, concluyendo en la integración de contenidos adquiridos en el transcurso de este periodo.

En primera instancia, se logró obtener polímeros dendronizados a partir de la modificación de estructuras naturales, o de su síntesis. Para el polímero obtenido a partir de Ch, la utilización de un biopolímero como base lo posiciona como potencial candidato para futuras aplicaciones, dadas las propiedades de no toxicidad y biocompatibilidad del polímero base, y la sencillez de la modificación planteada. A su vez, la obtención de poli(ABC) implicó la síntesis y polimerización de un monómero dendrítico, para lograr un polímero con un grado de dendronización del 100%. En este sentido, los nuevos materiales sintetizados poseen un alto valor agregado, a la vez que sus propiedades físico-químicas los posicionan como potenciales candidatos para ser evaluados en áreas temáticas de interés.

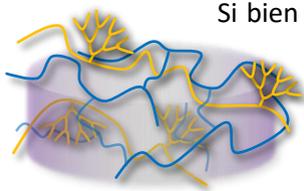


Por otro lado, se sintetizaron diferentes series de redes poliméricas expandibles empleando diversas metodologías y materiales de partida. En este sentido, los resultados más destacados se obtuvieron en la preparación de hidrogeles inteligentes a



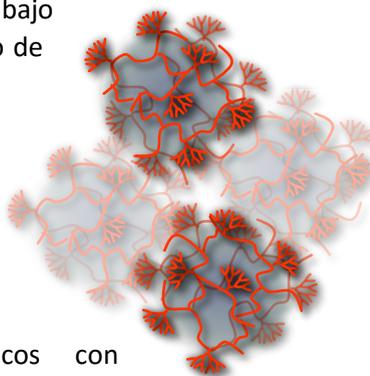
partir de monómeros y entrecruzantes vinílicos. En esta etapa del trabajo se obtuvieron con relativa facilidad materiales sensibles a cambios en el pH o en la temperatura del medio. Además, y como uno de los resultados más importantes de esta sección, la síntesis y caracterización de una red expandible dendronizada con respuesta dual a estímulos del medio, significó la obtención de un nuevo material inteligente de fácil manipulación y con potenciales aplicaciones futuras.

En tercer lugar, se logró combinar los conocimientos adquiridos en las etapas precedentes, con la finalidad de preparar nuevas estructuras poliméricas. Así, la obtención de redes poliméricas interpenetradas basadas en hidrogeles sensibles a estímulos y polímeros dendronizados, fue el foco de interés en esta sección.



Si bien los resultados no fueron concluyentes, fueron útiles como base para estudios futuros. La experiencia adquirida también sirvió de base para plantear las modificaciones necesarias en el proceso sintético, que serán evaluadas en futuros trabajos.

Así como la sección anterior significó la integración de contenidos, la cuarta parte de este Trabajo de Tesis Doctoral implicó tanto el uso de conocimientos previos, como así también, la incorporación de nuevos aspectos referidos a la síntesis y caracterización de nanomateriales. En este sentido, dos sistemas poliméricos fueron sintetizados. Por un lado, fueron preparados nanogeles copoliméricos con



respuesta dual a estímulo, los que además, fueron evaluados como plataformas de liberación controlada de un principio antitumoral clásico, como lo fue *cis*-Pt. Por otro lado, fue abordada la obtención de nanogeles *semi* interpenetrados con respuesta a estímulos y modulación de su multifuncionalidad, y continúa en estudio, con resultados prometedores. Si bien sólo se realizó una primera aproximación referente a estos tópicos, los sistemas nanoscópicos sintetizados proporcionaron un cierre (parcial) a este Trabajo de Tesis Doctoral, implicando una fuerte integración de contenidos y el abordaje a la ciencia de los nanomateriales.



Por último, durante el periodo de realización de esta Tesis Doctoral, se realizaron innumerables actividades paralelas, como articulación, vinculación y difusión científica. A pesar de ello, una de las actividades más significativas, tanto por cuestiones laborales como personales, fue la posibilidad de realizar la actividad científica en los confines del mundo. A partir de esta experiencia única, se pudo detectar y cuantificar una serie de contaminantes orgánicos persistentes en masas de aire en la región antártica, siendo éstas las primeras mediciones de este tipo realizadas por un grupo de investigación de la República Argentina.



ॐ

स्वस्तिप्रजाभ्यः परिपालयंतां  
न्यायेन मार्गेण महीं महीशाः ।  
गोब्राह्मणेभ्यः शुभमस्तु नित्यं  
लोकाः समस्ताः सुखिनो भवन्तु ॥  
ॐ शान्तिः शान्तिः शान्तिः

Om

*Gloria a la prosperidad*

*Que los gobernantes guíen el mundo con paz y justicia*

*Que todos los seres del mundo gocen de paz y felicidad*

*Que las acciones de nuestras vidas contribuyan en la paz y felicidad de  
todos los seres*

*Om. Paz, paz, paz*

*Mangala Mantra*

---

CONICET



Universidad  
Nacional  
de Córdoba



I M B I V