

DENDRONIZACIÓN: UNA IMPORTANTE HERRAMIENTA EN LA OBTENCIÓN DE POLÍMEROS FUNCIONALES

Marisa Martinelli, Marcelo Calderón, Cecilia Alvarez y Miriam Strumia

Departamento de Química Orgánica, Facultad de Ciencias Químicas, Universidad Nacional de Córdoba. Córdoba, Argentina. Correo electrónico: mcs@fcq.unc.edu.ar

1. INTRODUCCIÓN

Desde hace varios años, la relación estructura/propiedad de los materiales poliméricos ha sido controlada mediante el uso de la estructura química como herramienta principal. Con el advenimiento de la química de dendrímeros y posteriormente, de la química supramolecular, dos nuevas herramientas han cobrado importancia: la arquitectura y la organización molecular. Sumado a esto y como una forma de obtener materiales funcionalizados de una manera rápida y sencilla, la incorporación de estructuras dendríticas a polímeros ha ganado un creciente interés. Esta vía de síntesis está siendo usada como una forma efectiva de aumentar el número de grupos funcionales sobre una cadena polimérica, con un riguroso control del peso molecular y del número y naturaleza de las ramificaciones presentes. Este nuevo camino de síntesis dio origen a interesantes alternativas estructurales, conocidas hoy con el nombre de polímeros dendronizados o *dendrigraft* [1-3].

La dendronización de polímeros se puede realizar por vías sintéticas diferentes, pero el polímero que se usa como base o corazón de los materiales dendronizados, tiene una marcada influencia en las propiedades finales del producto a obtener. Algunas de las propiedades más relevantes son la polaridad, solubilidad y número, tipo y ubicación de los puntos de anclaje. Desde hace varios años, nuestro grupo de investigación está trabajando en la síntesis de polímeros funcionalizados, orientado principalmente hacia el estudio de la influencia ejercida por los grupos funcionales presentes en la cadena polimérica, sobre las propiedades de aplicación del material. Más recientemente, hemos incorporado el concepto de “dendronización” como un camino rápido hacia la obtención de polímeros funcionalizados. Hemos estudiado la influencia de la dendronización sobre las propiedades originales de los polímeros de partida ó hacia la búsqueda de nuevas propiedades en los productos dendronizados. En una primera parte de esta etapa del proyecto, se sintetizó y caracterizó una familia de dendrones con diferente número de ramificaciones y de grupos funcionales periféricos. Estas moléculas fueron usadas como agentes de funcionalización de dos tipos

XII Coloquio Venezolano de Polímeros, Universidad de Oriente, Cumaná 2007

diferentes de polímeros solubles, tales como oligómeros del diisocianato de metilo (MDI) [4] y poli(mono-metil itaconato) (PMMI) [5] e insolubles, tales como poli(butadieno-metacrilato de hidroxietilo) (poli PB-HEMA).

Hemos observado que la dendronización sobre matrices poliméricas solubles [4], induce cambios en las propiedades del polímero base, dependiendo de la estructura química del dendrón empleado. En este caso, la incorporación de dendrones a polímeros lineales provoca un marcado incremento del volumen hidrodinámico y cambios en la solubilidad, mostrando en algunos casos un comportamiento pseudo-inteligente.

Es importante destacar también que el creciente interés en la obtención de este tipo de estructuras multifuncionales[6], se debe a que presentan interacciones multivalentes las cuales son esenciales en procesos de reconocimiento biológico, donde organismos o moléculas biológicas, tales como virus o proteínas se unen por dos o más sitios a determinados receptores. En este sentido, hemos estudiado el comportamiento de una matriz hidrófila insoluble, poli PB-HEMA, modificada con un glicodendrón, frente a un receptor específico, Concanavalina A, lectina aglutinante de la sangre, en sistemas para afinidad cromatográfica [7]. La retención de lectina a partir de las matrices modificadas se incrementó con el aumento en la concentración de la solución de Con A de partida, alcanzando un valor máximo del 65% de retención respecto de la cantidad inicial agregada. Los resultados demostraron en general, que la capacidad de retención de las matrices dendronizadas fue menor respecto a los ensayos de retención empleando soportes no dendríticos reportados en la bibliografía [8], probablemente debido a un impedimento de la lectina Con A para adaptarse a los sitios de enlace multivalentes. Cabe destacar que, este trabajo ha significado una contribución importante a la química de macromoléculas, ya que no existen reportes donde ligandos dendríticos hayan sido empleados en sistemas para afinidad cromatográfica, incentivándonos así a continuar con el estudio de los mismos, siendo necesario definir con una mayor precisión el efecto tanto de la estructura química del polímero base como de la arquitectura de la molécula dendrítica.

Basados en la importancia de desarrollar nuevos sistemas dendríticos, capaces de participar en diferentes procesos de importancia, donde la potencial capacidad de formar interacciones multivalentes podría mejorar los resultados obtenidos, hemos estudiado el comportamiento de matrices insolubles modificadas con dendrones en procesos de retención de iones metálicos.

XII Coloquio Venezolano de Polímeros, Universidad de Oriente, Cumaná 2007

En este sentido, es conocida la existencia de una variedad de procesos de separación de iones metálicos a partir de soluciones acuosas, tales como precipitación, evaporación, extracción líquido-líquido, resinas de intercambio iónico, osmosis inversa y electrodialisis. No existen antecedentes bibliográficos del empleo de polímeros dendríticos o ligandos dendríticos con este fin. *Rether* [9] estudió la captación de cationes usando un polímero de PAMAM solubles en agua, mostrando excelentes resultados como poliquelatógeno.

En este trabajo, describimos la dendronización y caracterización de los soportes poliméricos insolubles, poli(PB-HEMA) y agarosa (Aga), empleando epiclorhidrina (ECH) y 1,4-butanodiol diglicidil eter (BDGE) para la introducción de grupos oxiranos reactivos sobre las matrices, seguido por el acoplamiento de un dendron y su comportamiento en la retención de iones metálicos a partir de soluciones acuosas.

2. PARTE EXPERIMENTAL

2.1. Materiales. Se emplearon los siguientes reactivos: metacrilato de 2-hidroxietilo, HEMA (*Fluka*); peróxido de benzoílo, BPO (*Riedel de Häen*); agarosa (*Aldrich*); 1,4 butanodiol diglicidil eter, BDGE (*Sigma*); epiclorhidrina ECH (*Riedel de Häen*); carbonato de sodio (*Cicarelli*); amina de *Behera* (provista por los laboratorios del Prof. *Newkome*); cloruro de tionilo (*Merck*); ácido 5-nitroisotálico 99% (*Aldrich*); trietilamina, TEA 99% (*Anedra*); cloruro de sodio, cloruro férrico, cloruro de cinc, cloruro de calcio, cloruro de cobre y cloruro de potasio (*Anedra*); sulfato de magnesio (*Tetrahedron*); paladio 10% P/P sobre carbón activado, Pd/C (*Aldrich*); sílica gel 60 (*Merck*); bromuro de potasio 99% grado espectroscópico (*Aldrich*); ácido fórmico (*Sintorgan*); cloroformo-*d* 99,8 %D (*Aldrich*) y agua-*d*₂ (suministrada por la Central Nuclear Embalse Río Tercero, Córdoba, Argentina). Los disolventes fueron provistos por *Sintorgan*, purificados por destilación y cuando fue necesario, secados con tamices moleculares 4 Å.

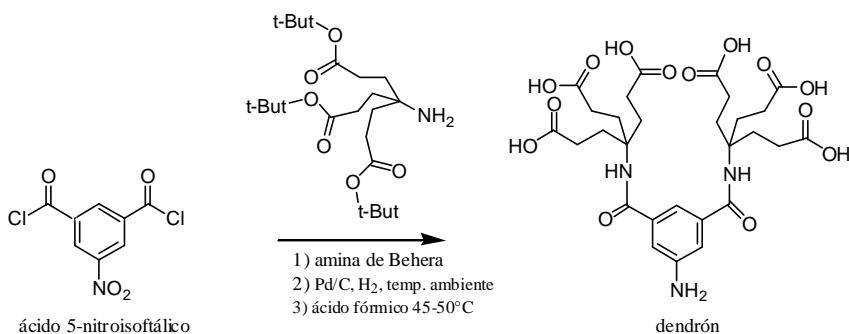
Los espectros infrarrojo (FT-IR) fueron obtenidos en un equipo *Nicolet 5-SXC FT-IR Spectrometer* sobre discos de KBr. Los espectros de resonancia magnética nuclear (NMR) fueron realizados en CDCl₃ o D₂O, usando un equipo *Bruker 200 MHz NMR Spectrometer*. Los espectros FAB fueron obtenidos en un instrumento CH₅DF/FAB sobre una matriz de CH₃OH/mNO₂-bencil-OH de la Universidad de *Freie*, Berlín (Alemania). Las determinaciones de absorción atómica fueron realizadas usando un equipo Polarized *Zeeman*

XII Coloquio Venezolano de Polímeros, Universidad de Oriente, Cumaná 2007

Absorption *Hitachi* Spectrophotometer perteneciente al Centro de Investigaciones de Materiales y Metroología (CIMM) (Córdoba, Argentina).

2.2. Procedimiento.

2.2.1. Síntesis del ligando dendrítico (dendrón). Se llevó a cabo la síntesis del dendrón a partir de ácido 5-nitroisofálico y amina de *Behera*, a través de una reacción de formación de amida, previa activación de los grupos ácido con cloruro de tionilo y la correspondiente formación del cloruro de ácido (Esquema 1). Se obtuvo un aceite viscoso con un rendimiento del 90%, el producto aislado fue purificado y caracterizado mediante espectroscopia FTIR, RMN¹H, RMN¹³C y FAB-MS [7].



Esquema 1. Síntesis del ligando dendrítico (dendrón)

2.2.2. Síntesis de la matriz poli(PB-HEMA). Activación de las matrices poli(PB-HEMA) y agarosa. La matriz de poli(PB-HEMA) fue sintetizada siguiendo el procedimiento descripto en literatura [10], a partir de una reacción entre poli(butadieno hidroxi terminal) (PB) y HEMA en benceno, empleando BPO como iniciador.

Previo a la unión del ligando dendrítico, los grupos hidroxilo de las matrices poli(PB-HEMA) y agarosa, fueron activados por reacción con ECH y BDGE [11], para obtener poli(PB-HEMA)-ECH, poli(PB-HEMA)-BDGE, Aga-ECH y Aga-BDGE, con grupos epóxido reactivos. Estas últimas reacciones se llevaron a cabo en medio básico y la cantidad de grupos epóxido fue determinado utilizando el método de HCl/piridina [12].

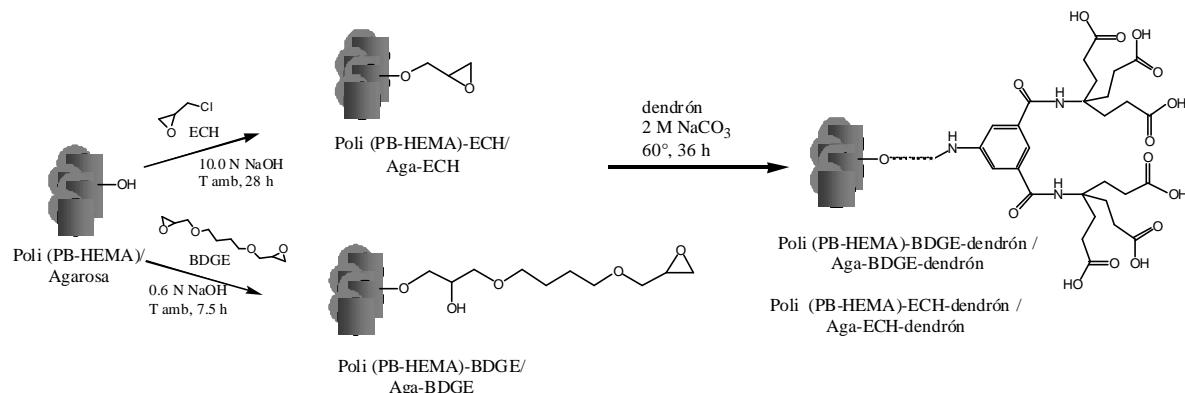
Los índices de hinchamiento en volumen (q_v) fueron determinados en agua, colocando el sólido seco (en forma de polvo) en un tubo de vidrio de 10 mL graduado y midiendo el volumen luego de 24 horas. El valor de q_v se calculó como el cociente entre el volumen hinchado (V_s) sobre el volumen seco (V_d), ($q_v = V_s/V_d$).

La unión del dendrón a las matrices activadas se muestra en el esquema 2.

XII Coloquio Venezolano de Polímeros, Universidad de Oriente, Cumaná 2007

2.2.3. Reacción de acoplamiento del ligando dendrítico a las matrices activadas.

Para obtener las matrices modificadas con el ligando dendrítico (dendrón), las mismas fueron hinchadas en agua (20% P/V) por 24 horas y luego mezcladas con el dendrón solubilizado en Na_2CO_3 2 M, en una relación milimolar epóxido/dendrón/ Na_2CO_3 igual a 1/5/9. Las mezclas de reacción fueron agitadas durante 16 horas a 60°C. Posteriormente, fueron filtradas y lavadas exhaustivamente con agua, ácido acético 0,1N y nuevamente con agua. Una vez purificadas las matrices dendronizadas (poli(PB-HEMA)-ECH-dendrón, poli(PB-HEMA)-BDGE-dendrón, Aga-ECH-dendrón y Aga-BDGE-dendrón) fueron secadas y la cantidad de grupos ácido presentes fue determinada por titulación por retroceso con NaOH 0,04 M y HCl 0,05 M, usando fenolftaleína como indicador [7].



Esquema 2. Unión del dendrón a las matrices activadas.

2.2.4. Ensayos de retención de iones metálicos. Las matrices dendronizadas (poli(PB-HEMA)-ECH-dendrón, poli(PB-HEMA)-BDGE-dendrón, Aga-ECH-dendrón y Aga-BDGE-dendrón), fueron empleadas para retener iones metálicos. Se realizó la retención de los iones metálicos Fe^{3+} , Cu^{2+} , Ca^{2+} , Zn^{2+} y K^+ sobre cada una de las matrices modificadas. Para ello, se pusieron en contacto 120 mg de cada matriz polimérica con 10 mL de soluciones acuosas de FeCl_3 (50 ppm de Fe^{3+}), CuCl_2 (50 ppm de Cu^{2+}), CaCl_2 (50 ppm de Ca^{2+}), ZnCl_2 (50 ppm de Zn^{2+}) o KCl (50 ppm de K^+) por 12 horas a temperatura ambiente con agitación. Luego, se centrifugaron y se tomaron 5 mL de cada sobrenadante y la cantidad de ión metálico quelado se determinó por absorción atómica, por diferencia entre la cantidad de ión metálico agregado y la cantidad de iones libres en cada solución. Se realizaron los correspondientes blancos, repitiendo el procedimiento anterior para las matrices sin dendronizar.

3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

3.1. Acoplamiento del ligando dendrítico a las matrices poliméricas activadas.

Las matrices seleccionadas para el acoplamiento del ligando multivalente (dendrón) fueron activadas para la formación de grupos epóxidos con dos reactivos (usados a su vez como espaciadores) de diferente largo de cadena, ECH y BDGE. A través de espectrofotometría IR se evidenció por deconvolución del espectro, la unión del dendrón a las matrices activadas, apareciendo una banda a 1703 cm^{-1} correspondiente a la vibración del enlace C=O, de los grupos ácido provenientes del dendrón presentes en las estructuras. La cantidad de ligando dendrítico unido fue determinada por titulación ácido-base de los grupos ácido del mismo.

En la Tabla 1 se muestran los resultados de la etapa de activación y de acoplamiento del dendrón, donde se observó que en todos los casos, independientemente de la matriz (poli(PB-HEMA) o agarosa), del contenido de grupos epóxido obtenido y del largo del espaciador empleado (ECH y BDGE), la concentración de dendrón sobre los productos fue similar.

Tabla 1. Cantidad de grupos epóxidos de las matrices activadas y determinación de la cantidad de ligando dendrítico unido.

Matriz	mmol epóxido/g de producto seco	Matriz	mmol dendrón/g de producto seco
Poli(PB-HEMA)-ECH	0,80	Poli(PB-HEMA)-ECH-dendrón	0,11
Poli(PB-HEMA)-BDGE	1,05	Poli(PB-HEMA)-BDGE-dendrón	0,09
Aga-ECH	1,57	Aga-ECH-dendrón	0,11
Aga-BDGE	0,66	Aga-BDGE-dendrón	0,11

Probablemente, en la unión del ligando dendrítico a las matrices epoxi-activadas gobierna un efecto de impedimento estérico debido al tamaño del ligando.

El valor del q_v usualmente está relacionado con el grado de expansión del polímero y depende de la densidad de entrecruzamiento del mismo. Este parámetro fue determinado a partir de los estudios de hinchamiento en agua llevados a cabo con los productos epoxi-

XII Coloquio Venezolano de Polímeros, Universidad de Oriente, Cumaná 2007

activados comparados con los valores de q_v de las matrices dendronizadas. Como se observa en la Tabla 2, el valor de q_v en general, es afectado por la dendronización, siendo menores los valores para las matrices conteniendo el dendrón, en relación a las matrices epoxi-activadas. Posiblemente, esta disminución se deba a interacciones entre los grupos ácido terminales del dendrón, impidiendo su expansión [13]. No obstante, las matrices dendronizadas poseen cierta capacidad de expansión, teniendo en cuenta los valores de q_v , hallados experimentalmente.

Tabla 2. Índices de hinchamiento de las matrices en agua.

Matriz	q_v^a
Poli(PB-HEMA)-ECH	3,0
Poli(PB-HEMA)-ECH-dendrón	2,3
Poli(PB-HEMA)-BDGE	1,3
Poli(PB-HEMA)-BDGE-dendrón	1,3
Aga-ECH	3,0
Aga-ECH-dendrón	1,5
Aga-BDGE	3,0
Aga-BDGE-dendrón	1,2

a) Calculado por la relación de volumen de la muestra en el estado hinchado (V_s) y el volumen en el estado seco (V_d)

3.2. Retención de iones metálicos utilizando las matrices poliméricas dendronizadas. Los estudios de retención de los iones metálicos Fe^{3+} , Cu^{2+} , Ca^{2+} , Zn^{2+} y K^+ se realizaron en sistema *batch*, poniendo en contacto las matrices poli(PB-HEMA)-ECH-dendrón, poli(PB-HEMA)-BDGE-dendrón, Aga-ECH-dendrón y Aga-BDGE-dendrón con soluciones acuosas de los correspondientes cloruros.

Los resultados de la retención de los iones metálicos empleando las matrices modificadas y sin modificar (blancos) se muestran en las Tablas 3 y 4, respectivamente.

De acuerdo a los resultados expuestos en la Tabla 3, se observa en general que las retenciones de iones metálicos de las matrices Aga-BDGE-dendrón y Aga-ECH-dendrón, fueron mayores que las retenciones de las matrices poli(PB-HEMA)-ECH-dendrón y poli(PB-HEMA)-BDGE-dendrón. Es importante destacar, que si bien en algunos casos, las retenciones de algunos metales fueron importantes en los blancos (Fe^{3+} y Zn^{2+} , Tabla 4), queda claramente evidenciado que la alta captación de Ca^{2+} y Cu^{2+} , en todas las matrices modificadas, es lograda específicamente por la presencia del ligando dendrítico. Las matrices de agarosa sin

XII Coloquio Venezolano de Polímeros, Universidad de Oriente, Cumaná 2007

modificar poseen un alto valor de hinchamiento en agua y la alta retención de Fe^{3+} podría deberse además a la presencia de residuos iónicos libres, diferentes a los grupos ácidos aportados por el dendrón.

A su vez, la matriz de Aga-ECH-dendrón demostró mayor capacidad de quelación de los iones metálicos (Fe^{3+} , Cu^{2+} , Ca^{2+} y Zn^{2+}) que la matriz de Aga-BDGE-dendrón, a pesar de que poseen la misma cantidad de dendrón unido. Esto probablemente, se deba a la mayor exposición de los grupos quelantes a causa del mayor hinchamiento que posee la matriz Aga-ECH-dendrón respecto de Aga-BDGE-dendrón.

Tabla 3. Retención de iones metálicos sobre las matrices dendronizadas.

Matriz	$Fe^{3+} \cdot 10^{-2}$ mmol/g de producto seco	$Ca^{2+} \cdot 10^{-2}$ mmol/g de producto seco	$Cu^{2+} \cdot 10^{-2}$ mmol/g de producto seco	$Zn^{2+} \cdot 10^{-2}$ mmol/g de producto seco	$K^+ \cdot 10^{-2}$ mmol/g de producto seco
Aga-ECH-dendrón	2,61	3,21	2,98	1,05	0,00
Aga-BDGE-dendrón	1,15	2,71	2,59	0,30	0,00
Poli(PB-HEMA)-ECH-dendrón	0,00	1,39	0,82	0,30	0,00
Poli(PB-HEMA)-BDGE-dendrón	0,88	0,80	1,05	0,20	0,00

En la retención relativa de las matrices de agarosa dendronizadas (Aga-BDGE-dendrón y Aga-ECH-dendrón), el orden de retención de cationes metálicos fue $Ca^{2+} > Cu^{2+} > Fe^{3+} > Zn^{2+}$. La retención de K^+ fue nula y, a diferencia de lo que ocurre con Fe^{3+} , la retención de los iones Ca^{2+} y Cu^{2+} , se debió en forma prácticamente exclusiva a la presencia del dendrón en las matrices, siendo estos iones los más retenidos. En el caso del Zn^{2+} , la retención fue baja, debido probablemente al impedimento generado por su radio iónico.

Para la matriz poli(PB-HEMA)-ECH-dendrón, el orden de retención fue $Ca^{2+} > Cu^{2+} > Zn^{2+}$ y nula para Fe^{3+} y K^+ , para poli(PB-HEMA)-BDGE-dendrón el orden fue $Cu^{2+} > Fe^{3+} > Ca^{2+} > Zn^{2+}$ y nula para K^+ . Nuevamente, dos de los cationes más retenidos fueron Ca^{2+} y Cu^{2+} .

XII Coloquio Venezolano de Polímeros, Universidad de Oriente, Cumaná 2007

Comparando los resultados obtenidos con los de bibliografía, se puede observar que la retención de los iones metálicos utilizando las matrices modificadas fue ligeramente menor, pudiendo deberse al efecto dendrítico del ligando.

Tabla 4. Retención de iones metálicos utilizando las matrices no modificadas (Blancos).

Matriz	$Fe^{3+} \cdot 10^{-2}$ mmol/g de producto seco	$Ca^{2+} \cdot 10^{-2}$ mmol/g de producto seco	$Cu^{2+} \cdot 10^{-2}$ mmol/g de producto seco	$Zn^{2+} \cdot 10^{-2}$ mmol/g de producto seco	$K^{+} \cdot 10^{-2}$ mmol/g de producto seco
Aga-ECH	5,04	0,20	0,00	0,82	0,00
Aga-BDGE	5,48	0,00	0,00	1,44	0,00
Poli(PB- HEMA)- ECH	1,23	0,00	0,00	0,00	0,00
Poli(PB- HEMA)- BDGE	0,60	0,00	0,00	0,12	0,00

4. CONCLUSIONES

Se ha sintetizado y caracterizado un dendrón a partir de amina de *Behera* y ácido 5-nitro isoftálico el que luego se acopló a dos matrices insolubles, poli(PB-HEMA) y agarosa, previamente activadas con grupos epóxidos. Se estudió el comportamiento de las matrices dendronizadas poli(PB-HEMA)-BDGE-dendrón, poli(PB-HEMA)-ECH-dendrón, Aga-BDGE-dendrón y Aga-ECH-dendrón, para retener iones metálicos de soluciones acuosas a partir sus correspondientes cloruros y, se observó una marcada influencia de la presencia del dendrón en los ensayos realizados con iones Ca^{2+} y Cu^{2+} , no mostrando una mejora de la afinidad de las matrices por iones Fe^{3+} o Zn^{2+} . Las mejores retenciones se observaron con los productos de agarosa dendronizada (Aga-BDGE-dendrón y Aga-ECH-dendrón).

Este trabajo constituye una contribución relevante para el diseño de nuevos y atractivos sistemas basados en interacciones multivalentes ya que, no existen antecedentes del empleo de matrices insolubles en las cuales se hayan usado ligandos dendríticos, en este caso, para la quelación de metales.

Agradecimientos. Este trabajo fue financiado por FONCYT, CONICET y SECYT-UNC. El Dr. *Calderón* agradece a CONICET por la Beca otorgada. Los autores también agradecen al Prof. *Newkome* por la donación de la amina de *Behera*.

XII Coloquio Venezolano de Polímeros, Universidad de Oriente, Cumaná 2007

BIBLIOGRAFÍA

1. Gebbink RJM, Kruithof CA, van Klink GPM, Koten GV, *Reviews in Molecular Biotechnology*, **90**, 183(2002)
2. Chung YM, Rhee HK, *Catalyst Lett.*, **82(3-4)**, 249(2002)
3. Delong R, Stephenson K, Loftus T, Fisher M, Nolting A, Juliano RL, *J. Pharm. Sci.*, **86**, 462 (1997)
4. Martinelli M, Calderón M, Rodríguez E, Freire J, Strumia M, *Eur. Polym. J.*, **43**, 1978(2007)
5. Calderón M, Leiva A, Martinelli M, Gargallo L, Radic D, Strumia M. En redacción
6. Binder WH, Schmid W, *Monatshefte für Chemie*, **126**, 923(1995)
7. Martinelli M, Calderon M, Alvarez CI, Strumia M, *Reactive and Functional Polymer*, **67**, 1018(2007)
8. Alvarez C, Bertorello H, Strumia MC, Sanchez E, *Polymer*, **37(16)**, 3715(1996)
9. Rether A, Schuster M, *Reactive and Functional Polymer*, **57**, 1(2003)
10. Arguello R. Tesis Doctoral. Facultad de Ciencias Químicas, Universidad Nacional de Córdoba. Córdoba, Argentina (1981)
11. Alvarez CI, Strumia MC, Bertorello HE, *Reactive and Functional Polymer*, **34**, 103(1997)
12. Lee H, Neville K “*Handbook of epoxy resins*”. Nueva York, McGraw-Hill Inc. p 17, cap. 4 (1997)
13. Dahan A, Portnoy M, *J. Polym. Sci.: Part A: Polym. Chem.*, **43**, 235(2005)