

**VI. SÍNTESIS, CARACTERIZACIÓN Y ESTUDIO
CONFORMACIONAL EN DISOLUCIÓN DE
POLI(α -ALQUIL- β -L-ASPARTATO)S**

6.1. Introducción y antecedentes

Los poli(α -alquil- β -L-aspartato)s son derivados del nylon 3 con un grupo alcóxicarbonilo estereoregularmente insertado en el carbono 6 de la unidad repetitiva. Estas poliamidas presentan estructura y propiedades intermedias entre los nylons y los polipéptidos. El derivado isobutílico (PAIBLA) ha sido ampliamente estudiado y existe abundante información sobre el mismo. Como ya se ha comentado en anteriores capítulos, el PAIBLA presenta dos formas cristalinas una hexagonal y otra tetragonal. En ambos casos las cadenas poliméricas en conformación helicoidal están intramolecularmente estabilizadas por puentes de hidrógeno de forma similar a la hélice α característica de polipéptidos. Además, este polímero presenta interesantes propiedades como cristal líquido y respuesta piezoeléctrica. Este comportamiento sin precedentes en los nylons convencionales suscitó el interés hacia la investigación de otros miembros de la familia de poli(α -alquil- β -L-aspartato)s.

Es sabido que los ésteres alquílicos del ácido poli(α -L-aspartico) y del ácido poli(α -L-glutámico) presentan estructura y propiedades que varían dependiendo de la constitución del grupo alquilo. Los trabajos llevados a cabo recientemente en nuestro departamento sobre poli(α -*n*-alquil- β -L-aspartato)s (López-Carrasquero, 1995) han revelado que el derivado *n*-butílico muestra un comportamiento estructural similar al PAIBLA. Los miembros con cadenas alquílicas lineales desde hexilo a docosilo parece que adoptan el mismo tipo de conformación helicoidal si bien presentan diferente tendencia a cristalizar según la longitud de la cadena lateral. Los miembros que contienen grupos alquilo lineales largos, de C₁₂ a C₂₂ forman estructuras bifásicas en las que el esqueleto de poliamida queda embebido en una fase parafínica constituida por las cadenas laterales polimetilénicas. En este capítulo se recogen los estudios realizados sobre la síntesis, caracterización y ciertas propiedades de los poli(α -alquil- β -L-aspartato)s con grupos alquilo ramificados y cíclicos.

Referente a la obtención de poli(α -alquil- β -L-aspartato)s, las primeras síntesis de poli-6-amidas se efectuaron mediante la polimerización de los correspondientes *N*-carboxianhídridos del ácido β -L-aspartico (Birkofer y Modic, 1960). Varios autores (Kovacs *et al.*, 1963;

Moschopedis y Munford, 1971) han utilizado este método para la obtención de poli(α -etil- β -L-aspartato) a partir del ácido L-aspártico, obteniendo siempre polímeros de muy bajo peso molecular, debido principalmente a la formación de los anhídridos intermedios. Posteriormente se desarrolló un segundo método para la preparación de poli(α -alquil- β -L-aspartato)s que se basó en la policondensación de los esteres activos del ácido L-aspártico (Kovacs *et al.*, 1965). Este procedimiento se aplicó a la obtención de poli(α -isobutil- β -L-aspartato) (Yuki *et al.*, 1978), tal como se ha indicado ya en el capítulo IV. Por este método se obtienen productos en un rango de pesos moleculares de 30.000-90.000. La polimerización aniónica por apertura el anillo de β -lactamas fue desarrollada por Graf *et al.* en 1962 obteniendo derivados del nylon 3 de elevado peso molecular con buenos rendimientos. La síntesis se aplicó a la obtención de nylons 3 C-alquil sustituidos con resultados satisfactorios. Las β -lactamas utilizadas en este caso como monómeros se obtienen por adición electrofílica dipolar 1,2 del clorosulfonil isocianato a olefinas. Sin embargo, esta reacción no es aconsejable cuando se desea obtener alcóxicarbonil β -lactamas ya que en este caso los derivados acrílicos que deberían utilizarse como sustrato en la adición presentan baja nucleofilia. Por otro lado, cuando en la reacción se generan centros quirales se obtienen de forma inevitable mezclas racémicas.

La síntesis de poli(α -alquil- β -L-aspartatos)s estereoregulares mediante polimerización por apertura de anillo requiere la obtención previa de los monómeros ópticamente activos 4-alcóxicarbonil-2-azetidionas (descrito en el capítulo III de esta memoria). En la polimerización de alcóxicarbonil β -lactamas no se requiere como iniciador la presencia de derivados *N*-acil lactama. Parece ser que la existencia de grupos carboxilato con carácter aceptor de electrones aumenta la reactividad de estas β -lactamas, contrariamente a lo que sucede en la polimerización de alquil β -lactamas (Sekiguchi, 1984). La polimerización de todos los monómeros sintetizados en el presente estudio se realizó siguiendo la metodología expuesta en capítulo IV.

El análisis térmico revela que el nylon 3 funde alrededor de 340 °C con considerable descomposición. Como es de esperar la existencia de un grupo lateral sustituido sobre la

cadena principal modifica el punto de fusión. La modificación depende del grado de sustitución y de la naturaleza precisa del sustituyente. Se sabe que las C-metil poli(β -amida)s, incluyendo derivados monosustituídos y disustituídos de polímeros estéreoregulares y no estéreoregulares, funden con descomposición en un rango de temperaturas situados entre 268 y 410°C (Eisenbach *et al.*, 1979; Schmidt, 1970). Los poli(β -L-aspartato)s con grupos alquilo lineales funden con descomposición en un rango de temperaturas de 250-350 °C (López-Carrasquero *et al.*, 1994).

Por otro lado y considerando los antecedentes existentes sobre la conformación helicoidal que presenta el derivado isobutílico, se ha estudiado la conformación en disolución de la familia de poli(α -alquil- β -L-aspartato)s, así como la transición de la conformación hélice a la conformación ovillo estadístico. Es sabido que determinados poli(α -aminoácido)s forman estructuras helicoidales no sólo en estado sólido sino también en disolución. La transición hélice-ovillo en solución ha sido observada por diferentes métodos (Fasman, 1967). Las técnicas comúnmente empleadas para la observación de este fenómeno son el dicroísmo circular (DC), la dispersión óptica rotatoria (DOR) y la espectroscopia de RMN (Bobey, 1974). La variación de viscosidad frente a temperatura es otra técnica útil en la determinación de este tipo de transiciones. También existen antecedentes sobre poliamidas sintetizadas ópticamente activas cuyas propiedades ópticas revelan la existencia de conformaciones ordenadas (Overberger *et al.*, 1969).

Por otra parte, considerando que hasta la fecha no se habían investigado poli(β -L-aspartato)s con grupos laterales alicíclicos, el interés se centró en analizar la influencia que puede ejercer la cadena lateral de naturaleza cíclica sobre la conformación del poli(α -ciclohexil- β -L-aspartato). El estudio tiene particular interés si se considera el efecto que el equilibrio axial-ecuatorial puede tener sobre la estabilidad de la hélice. En este sentido se ha comprobado que los cambios *cis-trans* fotoinducidos en ciertas cadenas laterales de poli(α -L-aspartato)s provocan la transición de la cadena principal de la conformación hélice- α a la conformación ovillo estadístico (Ueno *et al.*, 1981 y Pieroni *et al.* 1995).

6.2. Experimental

La polimerización de las alcoxicarbonil β -lactamas se realizó en disolución a temperatura ambiente, durante 24 horas y bajo atmósfera de nitrógeno. Las operaciones se realizaron en un bolsa de polietileno con un agente desecante en su interior y purgada sucesivas veces con nitrógeno para garantizar la ausencia de humedad.

En general las polimerizaciones se llevaron a cabo en DMSO, excepto en el caso del derivado *n*-propílico en donde se utilizó DCM como disolvente. La polimerización de la (5)-4-*n*-propoxicarbonil-2-azetidiona se realizó en DCM para reproducir las condiciones empleadas en los derivados metílico y etílico. El poli(α -*n*-propil- β -L-aspartato) (PAPLA) se sintetizó básicamente con la finalidad de estudiar su comportamiento estructural y relacionarlo con los poliaspartatos de metilo y etilo estudiados recientemente en este departamento (López-Carrasquero *et al.*, 1996). La polimerización de las lactamas de metilo y etilo debe realizarse en DCM para evitar la imidación de los polímeros.

Para la obtención de los poli(β -L-aspartato)s con grupos alquilo ramificados y cíclicos se siguió básicamente la metodología descrita en el capítulo IV y que posteriormente a su establecimiento también se utilizaría para la obtención de los derivados con grupos alquilo lineales. En concreto, una solución de monómero en DMSO (18% p/p) conteniendo pirrolidona sódica en relación molar del 4% respecto al monómero, se dejó bajo agitación a temperatura ambiente durante 24 horas. El polímero recuperado de la mezcla de reacción por precipitación con metanol se purificó mediante repetidas precipitaciones con metanol a partir de soluciones en CHCl_3/TFA . Los datos relativos a los polímeros obtenidos se detallan a continuación.

Poli(α -*n*-propil- β -L-aspartato) (PAPLA)

A una solución de 1,3 g (8,3 mmol) de (5)-4-*n*-propoxicarbonil-2-azetidiona (β -lactama de *n*-propilo) en 5,5 mL de DCM se añadieron bajo enérgica agitación 35 mg (0,33 mmol) de pirrolidona sódica en polvo, y la mezcla se dejó reaccionar durante 24 horas. El polímero

se aisló y purificó de acuerdo con el método general, obteniéndose 1,22 g de sólido blanco. Rendimiento, 94%.

Análisis elemental:

Calculado para $C_7H_{11}NO_3$	C 53,59	H 7,05	N 8,91
Experimental	C 53,34	H 7,04	N 8,87

IR (cm^{-1} , film en TFA): 3285 (NH, amida A), 3088 (amida B), 1743 (C=O, éster), 1655 (amida I), 1543 (amida II).

RMN 1H (en $CDCl_3$ /TFA): δ (ppm) 8,07 (d, 1H, NH); 4,97 (m, 1H, α -CH); 4,21 (t, 2H, $COOCH_2$); 3,16 (m, 2H, β - CH_2); 1,69 (m, 2H, $COOCH_2CH_2$); 0,94 (t, 3H, CH_3).

RMN ^{13}C (en $CDCl_3$ /TFA): δ (ppm) 173,67 (COO); 173,65 (CONH); 70,79 ($COOCH_2$); 50,78 (α -CH); 37,55 (β - CH_2); 22,36 ($COOCH_2CH_2$); 10,20 (CH_3).

Poli (α -isopropil- β -L-aspartato) (PAIPLA)

Se adicionaron 3,6 mL de una solución de pirrolidona sódica en DMSO (7,5 mg/mL) sobre una solución fuertemente agitada de 1 g (6,4 mmol) de (*S*)-4-isopropoxicarbonil-2-azetidiona (β -lactama de isopropilo) en 1,5 mL de DMSO. Tras aislar y purificar el polímero según el método general se obtuvieron 0,74 g de producto. Rendimiento, 74%. Análisis elemental:

Calculado para $C_7H_{11}NO_3$	C 53,59	H 7,05	N 8,91
Experimental	C 53,01	H 6,97	N 8,93

IR (cm^{-1} , film en TFA): 3290 (NH, amida A), 3091 (amida B), 1743 (C=O, éster), 1660 (amida I), 1549 (amida II).

RMN 1H (en $CDCl_3$ /TFA): δ (ppm) 8,05 (d, 1H, NH); 5,01 (hep, 1H, $COOCH$); 4,87 (m, 1H, α -CH); 3,10 (m, 2H, β - CH_2); 1,22 (m, 6H, CH_3).

RMN ^{13}C (en $CDCl_3$ /TFA): δ (ppm) 173,41 (COO); 172,84 (CONH); 73,93 ($COOCH$); 50,60 (α -CH); 37,26 (β - CH_2); 21,36 (CH_3).

Poli(α -neopentil- β -L-aspartato) (PANPLA)

De manera análoga al producto anterior, se partió de 1 g del compuesto (*S*)-4-(2,2'-dimetil)propoxycarbonil-2-azetidiona (β -lactama de neopentilo), obteniéndose 0,51 g de polímero. Rendimiento, 51%. Análisis elemental:

Calculado para C ₉ H ₁₅ NO ₃	C 58,37	H 8,16	N 7,56
Experimental	C 57,63	H 8,04	N 7,36

IR (cm⁻¹, film en TFA): 3276 (NH, amida A), 3077 (amida B), 1736 (C=O, éster), 1656 (amida I), 1544 (amida II).

RMN ¹H (en CDCl₃/TFA): δ (ppm) 8,05 (d, 1H, NH); 4,95 (m, 1H, α -CH); 3,86 (s, 2H, COOCH₂); 3,10 (m, 2H, β -CH₂); 0,89 (m, 9H, CH₃).

RMN ¹³C (en CDCl₃/TFA): δ (ppm) 171,96 (COO); 171,39 (CONH); 76,34 (COOCH₂); 49,34 (α -CH); 36,53 (β -CH₂); 31,17 (COOCH₂C); 25,91 (CH₃).

Poli(α -isoamil- β -L-aspartato) (PAIALA)

Siguiendo el procedimiento general, a partir de 1 g (*S*)-4-(3-metil)butoxicarbonil-2-azetidiona (β -lactama de isoamilo) se obtuvieron 0,57 g de polímero. Rendimiento, 57%.

Análisis elemental:

Calculado para C ₉ H ₁₅ NO ₃	C 58,37	H 8,16	N 7,56
Experimental	C 58,40	H 8,27	N 7,54

IR (cm⁻¹, film en TFA): 3286 (NH, amida A), 3089 (amida B), 1748 (C=O, éster), 1657 (amida I), 1547 (amida II).

RMN ¹H (en CDCl₃/TFA): δ (ppm) 7,98 (d, 1H, NH); 4,88 (m, 1H, α -CH); 4,22 (d, 2H, COOCH₂); 3,08 (m, 2H, β -CH₂); 1,61 (m, 1H, CH(CH₃)₂); 1,50 (m, 2H, COOCH₂CH₂); 0,87 (d, 6H, CH₃).

RMN ¹³C (en CDCl₃/TFA): δ (ppm) 172,85 (COO); 172,65 (CONH); 67,20 (COOCH₂); 50,05 (α -CH); 37,00 (CH(CH₃)₂); 36,83 (β -CH₂); 25,35 (COOCH₂CH₂); 22,14 (CH₃).

Poli(α -ciclopentil- β -L-aspartato) (PACPLA)

Se prepararon 0,81 g de polímero a partir de 1 g del compuesto (5)-4-ciclopentoxicarbonil-2-azetidiona (β -lactama de ciclopentilo), de acuerdo con el procedimiento general. Rendimiento, 81%. Análisis elemental:

Calculado para $C_9H_{13}NO_3$	C 59,00	H 7,15	N 7,64
Experimental	C 58,75	H 6,92	N 7,89

IR (cm^{-1} , film en TFA): 3288 (NH, amida A), 3089 (amida B), 1738 (C=O, éster), 1659 (amida I), 1550 (amida II).

RMN 1H (en $CDCl_3$ /TFA): δ (ppm) 8,00 (d, 1H, NH); 5,27 (m, 1H, COOCH); 4,85 (m, 1H, α -CH); 3,12 (m, 2H, β -CH $_2$); 1,88(m, 4H, COOCHCH $_2$); 1,69 (m, 1H, COOCHCH $_2$ CH $_2$).

RMN ^{13}C (en $CDCl_3$ /TFA): δ (ppm) 173,44 (COO); 173,06 (CONH); 83,02 (COOCH); 50,59 (α -CH); 37,25 (β -CH $_2$); 32,94 (COOCHCH $_2$); 24,18 (COOCHCH $_2$ CH $_2$).

Poli(α -ciclohexil- β -L-aspartato) (PACHLA)

A partir de 1 g de (S)-4-ciclohexoxicarbonil-2-azetidiona (β -lactama de ciclohexilo), tras operar según el procedimiento general, se obtuvieron 0,86 g de polímero. Rendimiento, 86%.

Análisis elemental:

Calculado para $C_{10}H_{15}NO_3$	C 60,90	H 7,67	N 7,10
Experimental	C 60,69	H 7,64	N 7,20

IR (cm^{-1} , film en TFA): 3287 (NH, amida A), 3089 (amida B), 1742 (C=O, éster), 1556 (amida I), 1550 (amida II).

RMN 1H (en $CDCl_3$ /TFA): δ (ppm) 7,97 (d, 1H, NH); 4,81 (m, 2H, COOCH y α -CH); 3,04 (m, 2H, β -CH $_2$); 1,75 (m, 4H, COOCHCH $_2$); 1,51 (m, 4H, COOCHCH $_2$ CH $_2$); 1,31 (m, 2H, COOCHCH $_2$ CH $_2$ CH $_2$).

RMN ^{13}C (en $CDCl_3$ /TFA): δ (ppm) 172,61 (COO); 171,79 (CONH); 77,52 (COOCH); 49,88 (α -CH); 36,63 (β -CH $_2$); 31,11 (COOCHCH $_2$); 25,11 (COOCHCH $_2$ CH $_2$ CH $_2$); 23,48 (COOCHCH $_2$ CH $_2$).

6.3. Resultados y discusión

A partir de los datos obtenidos de las polimerizaciones de las alcóxicarbonil β -lactamas se deduce que el método empleado puede considerarse de utilidad general en la obtención de poli(α -alquil- β -L-aspartato)s, ya que en todos los casos los rendimientos son aceptables y los polímeros se obtienen con pesos moleculares elevados (**Tabla 6.1**).

Tabla 6.1. Resultados de la síntesis de poli(α -alquil- β -L-aspartato)s ^{a)}

Polímero	Disolvente	Rto (%)	[η] ^{b)} (dL/g)	$M_v \cdot 10^{-5}$ ^{c)}	
				(I)	(II)
PAPLA	DCM	94	6,19	14,0	7,1
PAIPLA	DMSO	74	1,82	3,4	1,4
PANPLA	DMSO	51	1,21	2,2	0,8
PAIALA	DMSO	57	1,94	3,7	1,5
PACPLA	DMSO	81	1,22	2,2	0,8
PACHLA	DMSO	86	1,53	2,8	1,1

a) Condiciones de polimerización: lactama/disolvente, 18% p/p. PyNa/lactama, 4% mol/mol. Tiempo de reacción 24 horas a temperatura ambiente.

b) Viscosidad intrínseca medida a 25°C en ácido dicloroacético.

c) Pesos moleculares estimados en base a los datos de viscosimetría según los parámetros de la ecuación establecida para el poli(γ -bencil- α -L-glutamato) (Doty *et al.*, 1956) (I) y para el poli(γ -metil- α -L-glutamato) (Tanaka, 1972) (II).

6.3.1. Caracterización fisicoquímica

Los valores obtenidos en los análisis elementales así como los datos espectroscópicos de IR y RMN están en completa concordancia con las estructuras esperadas para todos los polímeros.

Los espectros de IR revelaron en todos los casos las absorciones características de las poliamidas a 3285 (amida A), 3085 (amida B), 1660 (amida I), 1545 (amida II) y 670 (amida V) cm^{-1} , así como una intensa banda a 1740-1750 cm^{-1} correspondiente al grupo carbonilo de la cadena lateral.

Los espectros de RMN ^1H mostraron también las señales comunes a todos los poliaspartatos estudiados, aproximadamente a 8,0, 4,9 y 3,1 ppm, que corresponden respectivamente al NH, $\alpha\text{-CH}$ y $\beta\text{-CH}_2$ de cadena principal. Los dos protones diastereotópicos del carbono β junto con el protón del carbono α , constituyen un sistema ABX, responsable de la multiplicidad de las señales que aparecen a 4,9 y 3,1.

En los espectros de RMN ^{13}C , las dos señales correspondientes a los dos carbonilos de la unidad estructural que se observaron alrededor de 170 ppm junto con las correspondientes a los carbonos $\alpha\text{-CH}$ y $\beta\text{-CH}_2$ alrededor de 50 y 37 ppm respectivamente, son comunes a toda la serie de poli(β -L-aspartato)s. El hecho de que las señales atribuidas a estos carbonos aparezcan como singuletes sin indicios de desdoblamiento, confirma la ausencia de racemización en el polímero. El número de señales detectadas en los espectros de RMN ^{13}C , que se corresponden en cada caso con el número de carbonos de la unidad repetitiva, es una clara evidencia de la correcta constitución de los polímeros.

En la parte experimental se detallan los datos espectroscópicos para cada polímero sintetizado. Las Figuras 6.1, 6.2 y 6.3 muestran los espectros de IR, RMN ^1H y RMN ^{13}C para tres poli(α -alquil- β -L-aspartato)s representativos de la serie.

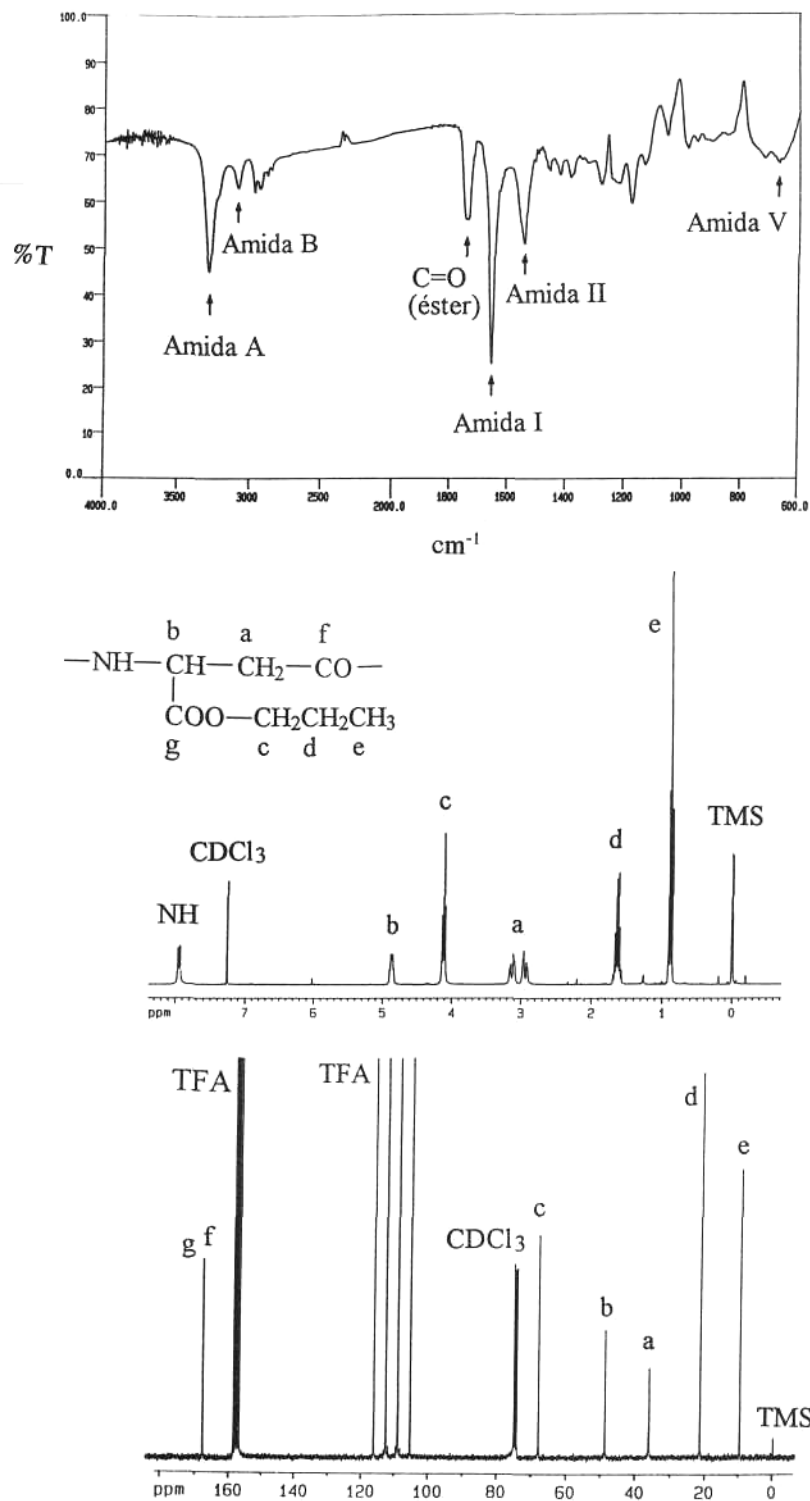


Figura 6.1. Espectros de IR, RMN ^1H y RMN ^{13}C del poli(α -*n*-propil- β -L-aspartato).

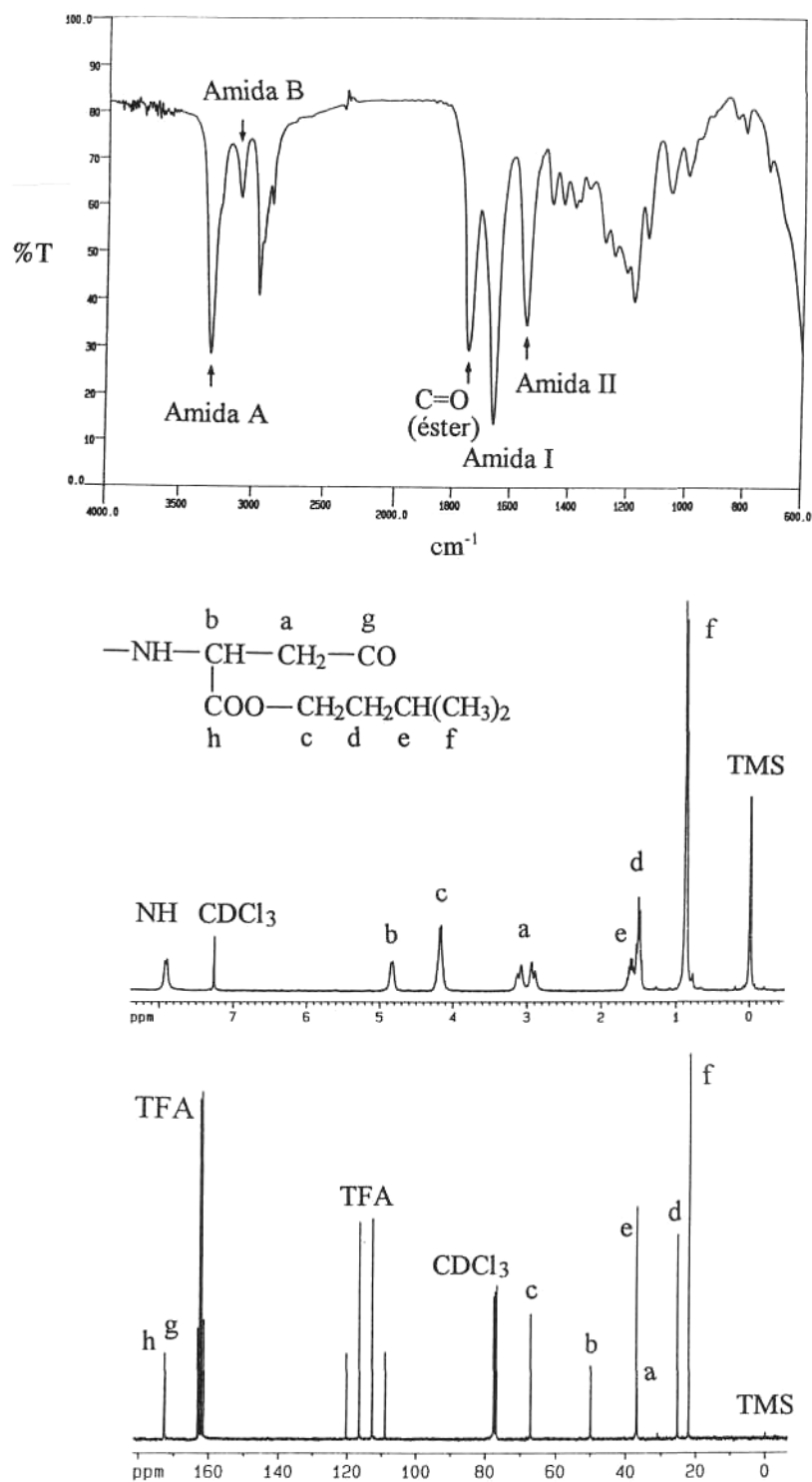


Figura 6.2. Espectros de IR, RMN ^1H y RMN ^{13}C del poli(α -isoamil- β -L-aspartato).

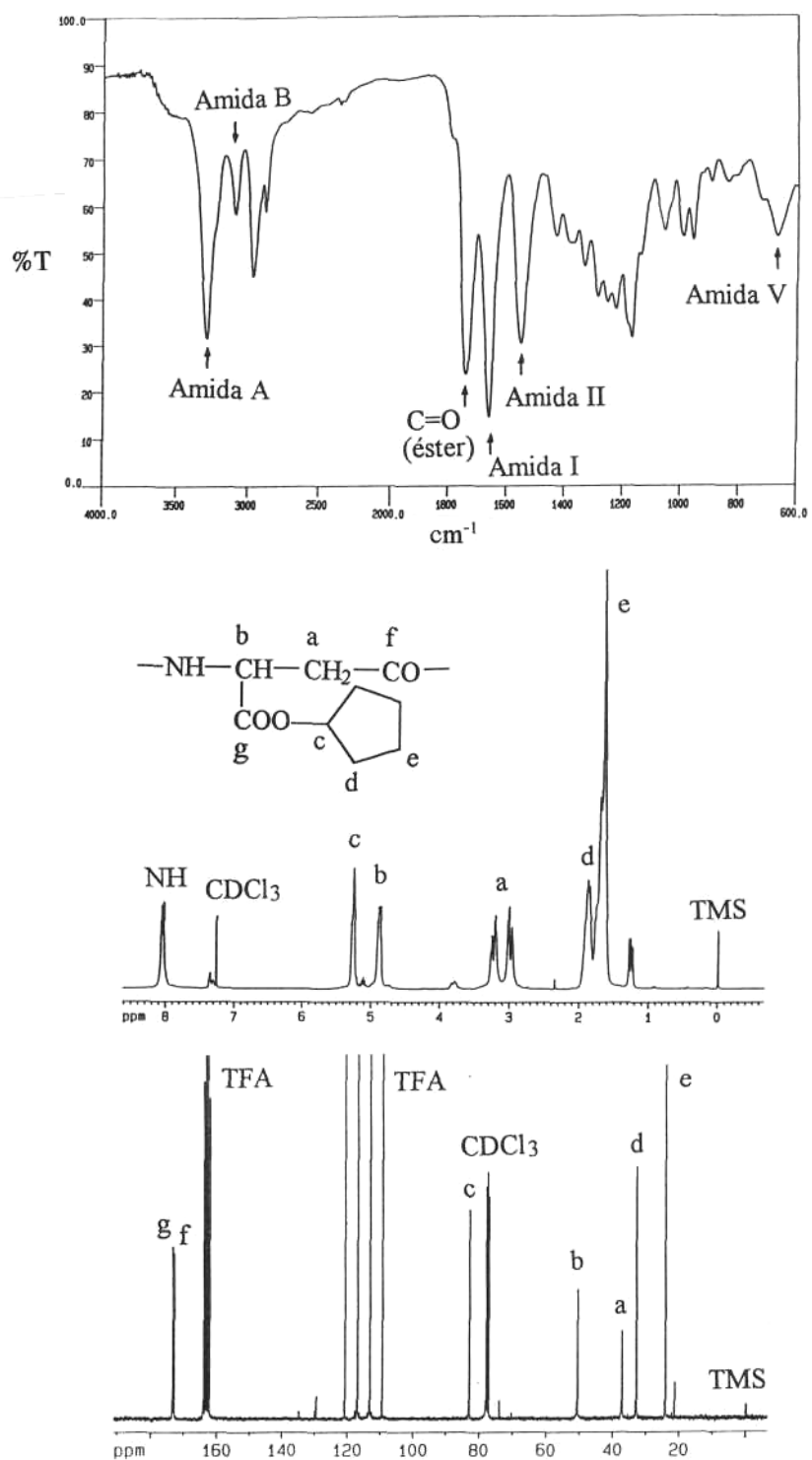


Figura 6.3. Espectros de IR, RMN ^1H y RMN ^{13}C del poli(α -ciclopentil- β -L-aspartato).

6.3.2. Análisis térmico

Los estudios sobre la estabilidad térmica del PAIBLA y de los poli(α -n-alquil- β -L-aspartato)s han revelado que estos polímeros presentan una alteración térmica muy prominente en un rango de temperaturas de 260-350°C.

El análisis térmico de los polímeros se llevó a cabo por calorimetría diferencial de barrido (DSC) y por análisis termogravimétrico (TGA). En general todos los polímeros exhibieron un comportamiento similar. En la **Figura 6.4** se muestran a modo de ilustración los resultados para el poli(α -isopropil- β -L-aspartato). Los termogramas DSC reflejan que a temperaturas que pueden oscilar entre 260 y 315°C, dependiendo del derivado que se trate, se produce un prominente pico endotérmico. Para el derivado isopropílico, como se muestra en la **Figura 6.4**, este se sitúa a 306°C. La aparición de este pico en DSC corresponde a una caída brusca en la curva TGA, en dos etapas y que implica una pérdida total de peso del 75-85%, según el caso. En la misma figura se muestra la derivada de la curva TGA. Puede observarse la buena concordancia entre la velocidad de pérdida de peso en la derivada de la curva TGA y la velocidad de absorción de calor en la curva DSC. De todas maneras, cuando una muestra sometida a calentamiento, se sigue por microscopía óptica, se observan indicios de fusión a la temperatura correspondiente al pico de DSC. Por consiguiente es razonable asumir que la endoterma observada incluye también la fusión del polímero.

Para esclarecer los procesos involucrados en la descomposición se analizaron las muestras por espectroscopia infrarroja. El espectro de infrarrojo del derivado isopropílico tras ser calentado hasta la temperatura correspondiente al final de la primera etapa (335 °C) se muestra en la **Figura 6.5**. A efectos comparativos se ha incluido el espectro de infrarrojo del polímero obtenido con anterioridad al tratamiento. Se observa que tras el tratamiento térmico el polímero está completamente imidado, tal como se deduce por la intensa banda de imida que aparece a 1715 cm^{-1} . Presumiblemente la imidación se produce como consecuencia del ataque electrofílico del grupo carbonilo de la cadena lateral sobre el NH de la unidad repetitiva adyacente, formándose un anillo de succinimida.

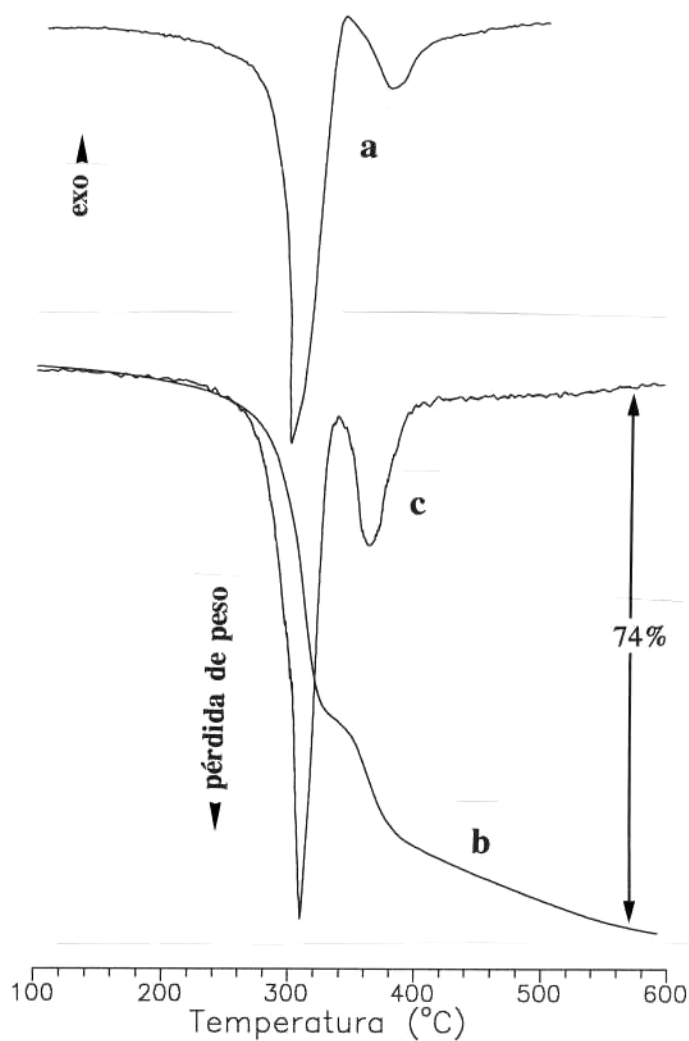


Figura 6.4. Termograma DSC (a), curva TGA (b) y derivada de la curva TGA (c) para el poli(α -isopropil- β -L-aspartato). Las experiencias fueron realizadas a una velocidad de calentamiento de 10 K/min bajo atmósfera de nitrógeno.

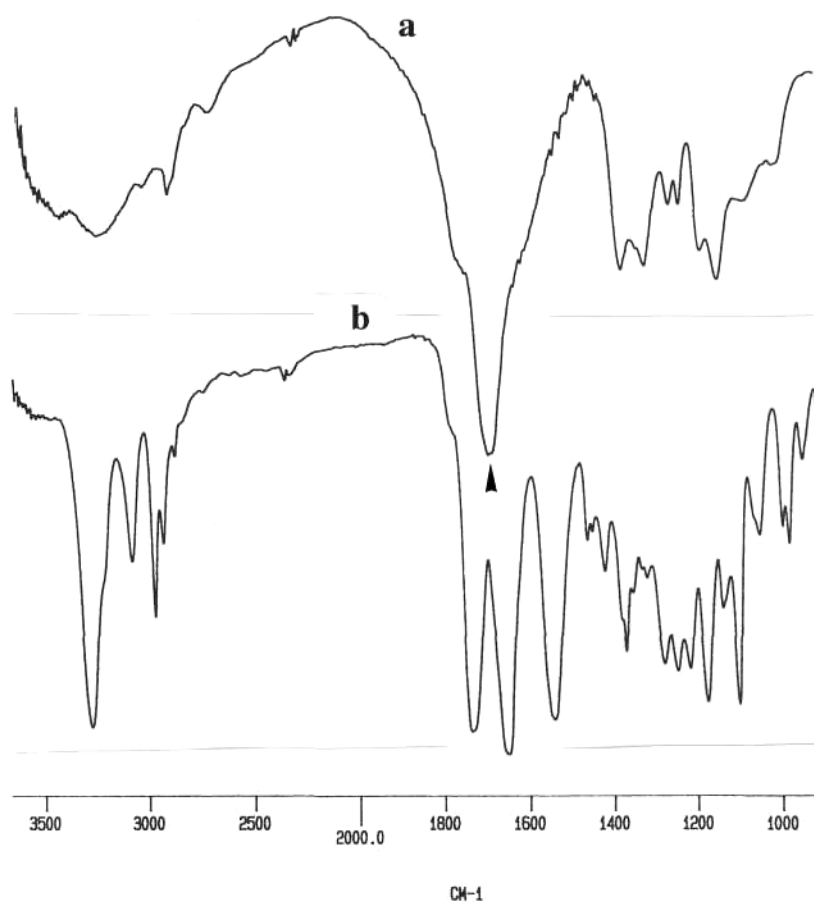


Figura 6.5. Espectros IR del poli(α -isopropil- β -L-aspartato). **(a)** Tras el calentamiento a 335°C; se observa la banda característica de imida. **(b)** Previo a la degradación térmica, no hay indicios de imida.

Los resultados del análisis térmico para el conjunto de polímeros estudiado se recoge en la **Tabla 6.2**. La pérdida de peso correspondiente a la primera etapa de descomposición, aproximadamente entre 40 y 50% según el derivado, corresponde en buena medida al valor calculado para un proceso de imidación que implicaría la pérdida de un mol de alcohol por unidad repetitiva de polímero. El pico endotérmico, correspondiente a la primera etapa, que

se detecta por DSC, podría atribuirse por tanto a la imidación intramolecular del polímero, con la consiguiente volatilización del alcohol correspondiente sin que pueda descartarse que ocurra simultáneamente la fusión del polímero. La pérdida de peso involucrada en la segunda etapa de descomposición, que ocurre alrededor de los 375°C, se interpretó como la rotura de la cadena principal y posterior volatilización de los fragmentos resultantes. La escisión de la cadena de poliamida que se genera en la primera etapa, se produciría previsiblemente mediante un mecanismo radicalario de forma similar al descrito por Kojima *et al.* (1986) para el poli(γ -metil- β -L-glutamato).

Tabla 6.2. Resultados del análisis térmico de los poli(α -alquil- β -L-aspartato)s

Polímero	R	T _f /T _d ^{a)} (°C) ^{b)}	T _d ^I (°C) ^{c)}	T _d ^{II} (°C) ^{c)}	Pérdida de peso (%)		
					(I) ^{d)}	(II) ^{e)}	(III) ^{f)}
PAPLA	<i>n</i> -C ₃ H ₇	261	261(333)	367	50	74	38,2
PAIPLA	<i>iso</i> -C ₃ H ₇	306	308	368	42	74	38,2
PAIBLA	<i>iso</i> -C ₄ H ₉	260	265	355	45	75	43,3
PANPLA ^{g)}	<i>neo</i> -C ₅ H ₁₁	343	348	377	-	79	47,6
PAIALA ^{g)}	<i>iso</i> -C ₅ H ₁₁	337	345	379	-	93	47,6
PACPLA	<i>ciclo</i> -C ₅ H ₉	300	297	376	49	77	47,0
PACHLA	<i>ciclo</i> -C ₆ H ₁₁	315	308	371	52	80	50,8

a) La fusión también se detecta por microscopía óptica.

b) Determinado por DSC.

c) Determinado por TGA.

d) y e) Valores experimentales, estimados por TGA para la primera etapa de descomposición, y para el proceso global respectivamente.

f) Valores calculados para la pérdida de peso correspondiente a la primera etapa.

g) Para PANPLA Y PAIALA las dos etapas de descomposición aparecen a temperaturas cercanas no siendo posible evaluar por separado la primera.

Todos los barridos se efectuaron a una velocidad de calentamiento de 10 K/min en atmósfera de nitrógeno.

6.3.3. Estudio conformacional en disolución

Los estudios realizados por dicroísmo circular (DC) y resonancia magnética nuclear (RMN) han mostrado que los poli(α -alquil- β -L-aspartato)s presentan conformación helicoidal cuando son disueltos en disolventes helicogénicos como el cloroformo. La adición de pequeñas cantidades de un ácido fuerte, como el ácido trifluoroacético (TFA) o el ácido dicloroacético (DCA), es capaz de destruir esta conformación transformándola en una más desordenada (ovillo estadístico). La transición hélice-ovillo, de gran interés biológico en polipéptidos y proteínas (Urnes *et al.*, 1961), está causada por la destrucción de los puentes de hidrógeno intramoleculares que se dan en las cadenas helicoidales. La transición hélice-ovillo se ha observado por DC como una caída del valor de la elipticidad molar hasta valores cercanos a cero. Por RMN ^1H , la transición se estima en base a las variaciones que experimenta la señal correspondiente al α -CH o al NH durante el cambio de conformación. Estas variaciones se producen no sólo en la posición del pico sino también en su forma. En general en la conformación helicoidal, los espectros de RMN ^1H presentan señales bastante anchas debido a una limitada movilidad molecular, estas señales se agudizan a medida que el polímero evoluciona hacia una conformación en ovillo estadístico.

Inicialmente se obtuvieron los espectros de DC de los poli(α -alquil- β -L-aspartato)s con el fin de constatar la existencia de conformaciones helicoidales similares a las exhibidas por los polipéptidos. Todos los polipéptidos ópticamente activos muestran efectos quiroópticos en las regiones de 180-205 nm y 210-240 nm, que corresponden a las transiciones Π - Π^* y n - Π respectivamente. En concreto el poli(γ -bencil- α -L-glutamato) en conformación hélice- α , presenta estas transiciones, que son el origen de las tres bandas detectadas por DC a 195 nm (Π - Π^*), 210 nm (Π - Π^*) y 220 nm (n - Π^*), la primera positiva y las dos últimas de signo negativo (Block, 1983). En relación a los poliaspartatos, en 1978 Yuki *et al.* registraron el espectro de dicroísmo circular del poli(α -isobutil- β -aspartato) (PAIBLA) en trifluoroetanol. El espectro mostró un pico negativo a 189 nm y un pico positivo a 205 nm. El tercer máximo detectado para la hélice α a 220 nm, en el PAIBLA aparecía muy débil y únicamente como un hombro. Estudios posteriores llevados a cabo en este departamento por

diferentes técnicas, entre ellas difracción de rayos X, permitieron asignar al PAIBLA, en estado sólido, una conformación helicoidal (Fernández-Santín *et al.*, 1987), concordante con el espectro de dicroísmo presentado por este polímero.

En el presente estudio se registraron los espectros de DC para todos los poli(α -alquil- β -L-aspartato)s sintetizados. Los espectros correspondientes a los derivados *n*-propílico, neopentílico, ciclopentílico y ciclohexílico se muestran en la **Figura 6.6**, los correspondientes al resto de poli(β -L-aspartato)s estudiados se muestran al discutir la transición hélice-ovillo (**Figuras 6.9 y 6.10**). Las concentraciones de cromóforo fueron en general de $4 \cdot 10^{-2}$ mol/L en solución de CHCl_3 . Los espectros de DC de todos los poli(α -alquil- β -L-aspartato)s estudiados resultaron ser muy similares al obtenido por Yuki *et al.* en 1978 para el PAIBLA. En ellos se evidencia una transición alrededor de 220 nm generada por el acoplamiento de los grupos cromóforos amida retenidos en una disposición fija de la cadena de polímero. Los valores de la elipticidad molar en los máximos están de acuerdo con una conformación helicoidal. Por el contrario, si la cadena principal tuviera flexibilidad, permitiendo diversos arreglos conformacionales, la transición sería menos intensa como producto de diferentes disposiciones geométricas a lo largo de la cadena principal. Puede concluirse por tanto, que los espectros de DC de los poli(β -L-aspartato)s estudiados presentan un patrón compatible con una conformación helicoidal similar a la de los polipéptidos.

6.3.3.1. Transición hélice-ovillo: efecto del disolvente

Con el fin de obtener evidencias adicionales sobre la conformación helicoidal de los poli(α -alquil- β -L-aspartato)s, se ha seguido por RMN y DC su transición a la conformación ovillo estadístico en disolución. Diversos estudios ponen de manifiesto que la RMN ^1H y el dicroísmo circular en disolución, aplicados individualmente o en combinación, constituyen métodos altamente efectivos para seguir la transición hélice-ovillo en polipéptidos (Kuadrifoglio *et al.* 1967; Bovey, 1974).

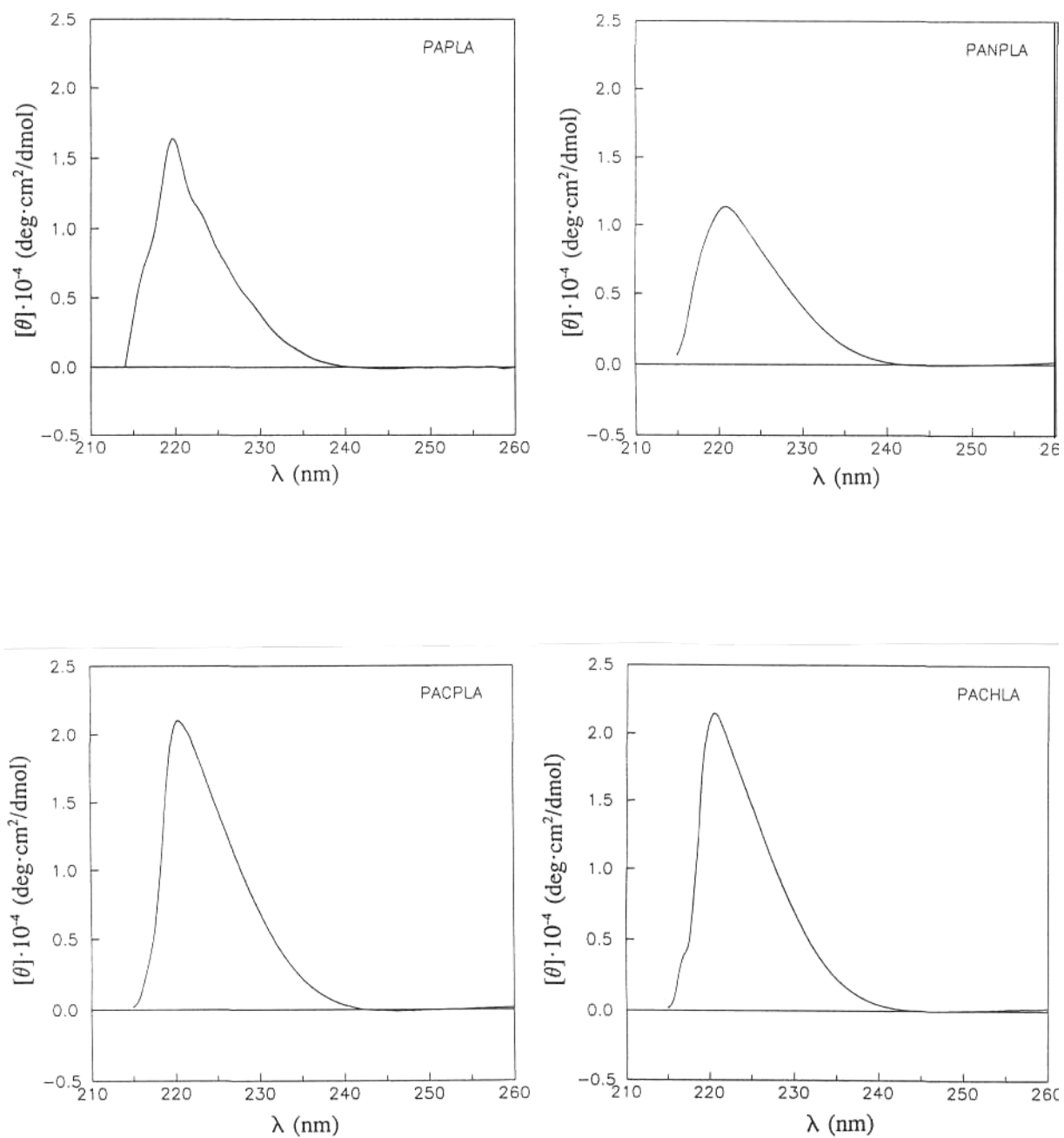


Figura 6.6. Espectros de dicroísmo circular en CHCl_3 de los derivados *n*-propílico (PAPLA), neopentílico (PANPLA), ciclopentílico (PACPLA) y ciclohexílico (PACHLA).

Por RMN ^1H la transición hélice-ovillo se ha estudiado para una amplia serie de poli(β -L-aspartato)s con grupos alquilo laterales lineales, ramificados y cíclicos. En todos los casos el espectro de RMN ^1H en CHCl_3 presenta picos extremadamente anchos debido a la existencia de agregaciones de cadenas en conformación helicoidal. Por adición de pequeñas cantidades de TFA, todas las señales se agudizan aumentando su definición, de forma que para un 5% de ácido se obtienen espectros bien resueltos, consistentes con la estructura química del polímero correspondiente. En las **Figuras 6.7** y **6.8** se muestra la transición hélice-ovillo seguida por RMN ^1H para los derivados *n*-butílico e isopropílico respectivamente.

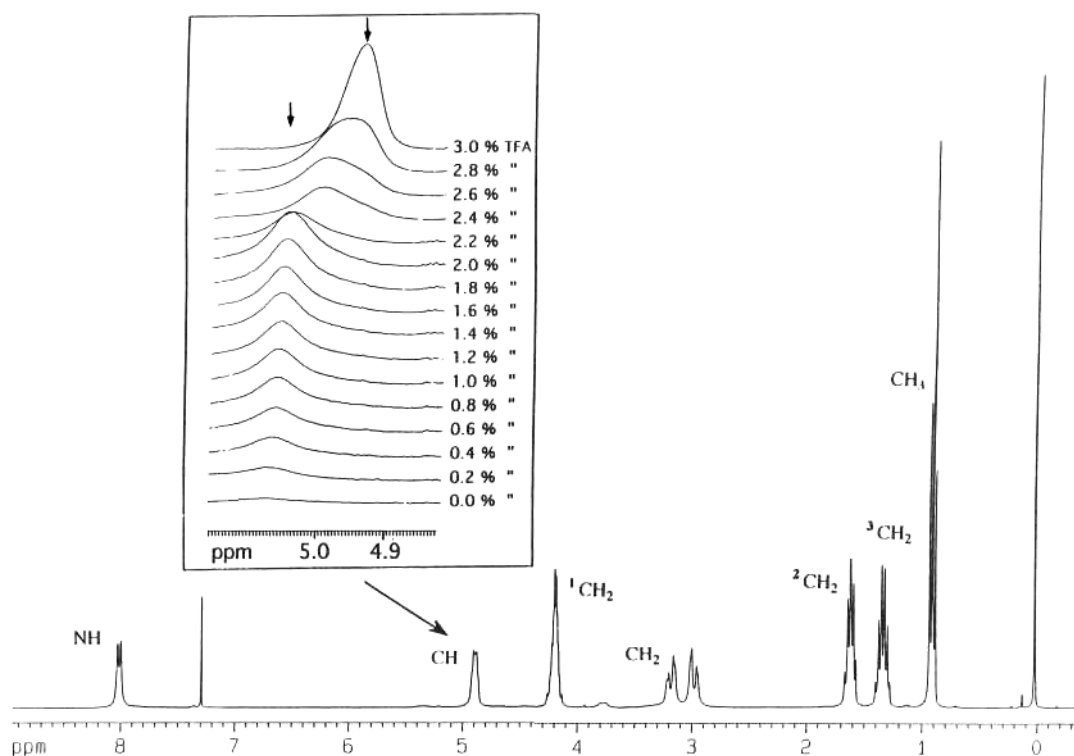


Figura 6.7. Espectro de RMN ^1H (300,13 MHz) del poli(α -*n*-butil- β -L-aspartato) en CDCl_3 conteniendo un 5% de TFA. *Inset:* Desplazamiento de la señal del α -CH de la cadena principal con la concentración de TFA.

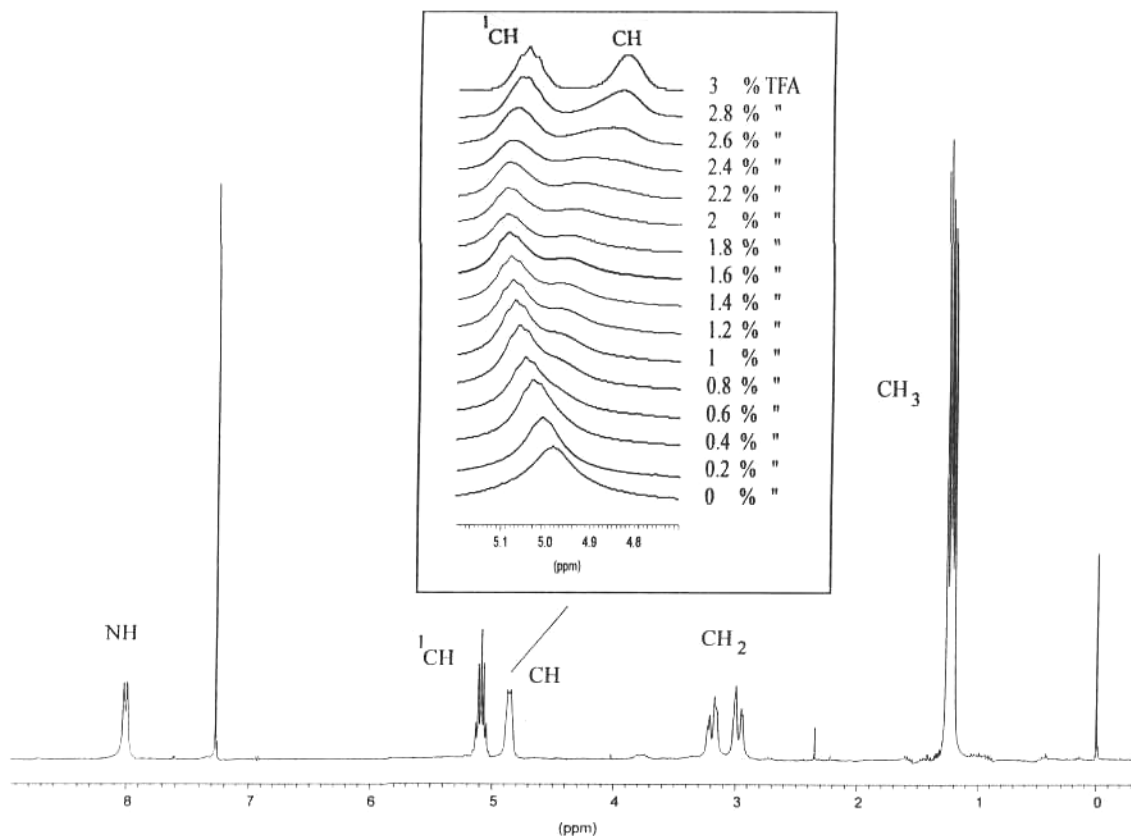


Figura 6.8. Espectro de RMN ^1H (300,13 MHz) del poli(α -isopropil- β -L-aspartato) en CDCl_3 conteniendo un 5% de TFA. *Inset:* Desplazamiento de la señal del α -CH de la cadena principal con la concentración de TFA. El pico remanente a $\sim 5,1$ ppm corresponde al CH de la cadena lateral que no se altera significativamente a lo largo del experimento.

De acuerdo con trabajos precedentes sobre polipéptidos (Bovey, 1974), estos cambios espectrales se atribuyen a desagregación y ruptura de la hélice de la cadena principal. Cuando la concentración de ácido se incrementa lentamente, puede determinarse la transición hélice-ovillo siguiendo la variación constante en los desplazamientos químicos de ciertas señales. En este sentido, la resonancia del protón α -CH de la cadena principal que aparece alrededor de 5 ppm es particularmente sensible a los cambios conformacionales en los poli(β -L-aspartato)s. La variación del desplazamiento químico de esta señal, desde aproximadamente

5,1 hasta prácticamente 4,9 ppm, que se observa conforme la concentración en ácido trifluoroacético aumenta del 2 hasta el 3% indica que la transición hélice-ovillo se produce en este rango de concentraciones tal como se muestra en las **Figuras 6.7** y **6.8**. Se ha comprobado también que esta transición es reversible. En la **Tabla 6.3** se recogen los valores referentes a la transición para algunos de los poli(β -L-aspartato)s estudiados.

Tabla 6.3. Resultados de RMN ^1H sobre la transición hélice-ovillo en poli(α -alquil- β -L-aspartato)s

R	δ (α -CH, ppm)		δ (NH, ppm)		%TFA (v/v) (transición)
	hélice ^{a)}	ovillo ^{b)}	hélice ^{a)}	ovillo ^{b)}	
-CH ₂ CH ₃	5,06	4,92	8,61	8,11	3,2 ^{c)}
<i>n</i> -C ₄ H ₉	5,20	4,90	-	-	2,4
<i>n</i> -C ₆ H ₁₃	-	-	-	-	2,6
<i>n</i> -C ₈ H ₁₇	-	-	-	-	2,2
<i>n</i> -C ₁₂ H ₂₅	5,04	4,84	8,61	7,93	2,2
<i>iso</i> -C ₃ H ₇	5,00	4,82	8,56	7,96	2,6
<i>iso</i> -C ₄ H ₉	-	-	-	-	2,8
<i>ciclo</i> -C ₅ H ₉	5,01	4,82	8,54	7,95	2,4
<i>ciclo</i> -C ₆ H ₁₁	4,99	4,81	8,55	7,96	2,6

a) En CDCl₃ con 0,4% de TFA.

b) En CDCl₃ con 3,0% de TFA.

c) Aparece separación de fases.

Por otra parte, se intentó determinar hasta que punto la conformación del poli(α -ciclohexil- β -L-aspartato) (PACHLA) está influenciada por la naturaleza cíclica del grupo

lateral. El derivado ciclohexílico tiene particular interés debido al efecto que el equilibrio ecuatorial-axial de la conformación silla del grupo ciclohexilo podría ejercer sobre la estabilidad de la hélice. Sin embargo, tal y como se ha indicado en **Tabla 6.3**, el PACHLA experimenta la transición de la forma hélice a ovillo estadístico a concentraciones de TFA alrededor de 2,6% (**Figura 6.9**), lo cual está en el rango observado para el resto de poli(β -L-aspartato)s estudiados. Estos resultados refuerzan las conclusiones preliminares referentes a que la estabilidad de las hélices que presentan los poli(β -L-aspartato)s no está afectada esencialmente por la naturaleza del grupo lateral.

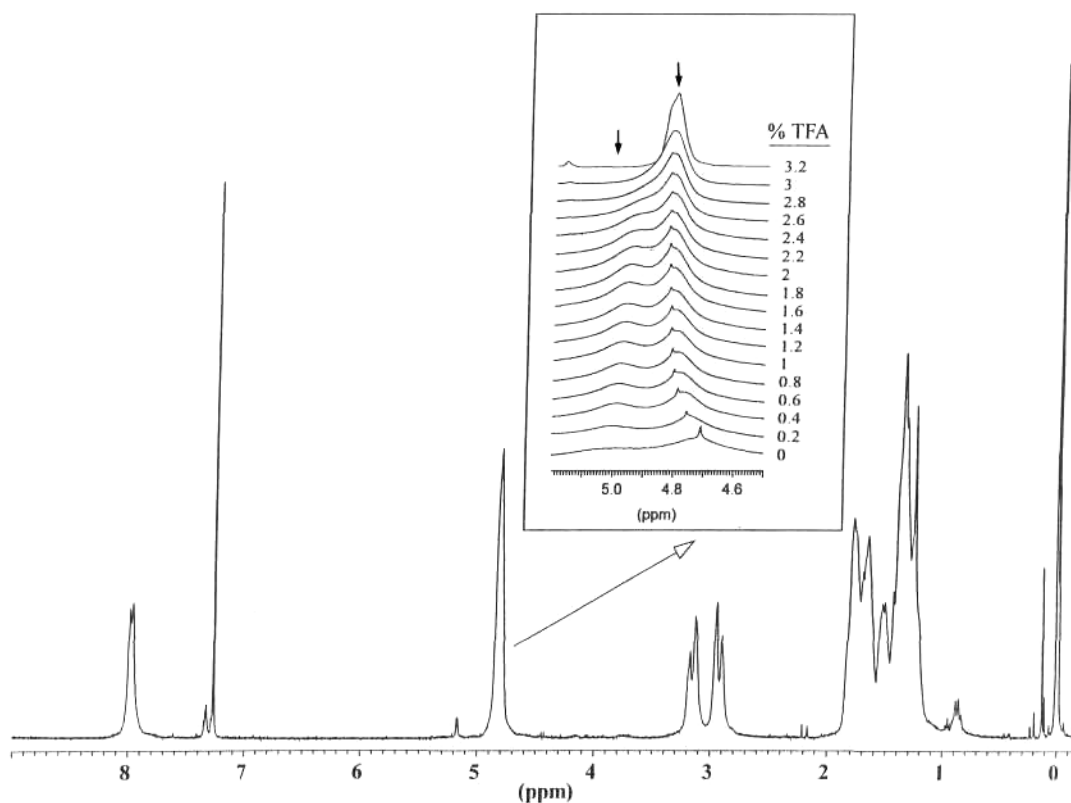


Figura 6.9. Espectro de RMN ^1H de PACHLA en CDCl_3 conteniendo 5%(v/v) de ácido trifluoroacético. *Inset:* Desplazamiento de la señal del CH de la cadena principal con la concentración de TFA.

A efectos comparativos, en la **Tabla 6.4** se muestran los valores promedio para estos poli(β -L-aspartato)s y los que se obtuvieron para el poli(γ -bencil- α -L-glutamato)(PGBLG) y el poli(α -bencil- β -L-aspartato)(PABLA), también por aumento sucesivo de la concentración de TFA en CDCl_3 . En dicha tabla se observa como por RMN ^1H en mezclas de CDCl_3/TFA los poliaspartatos estudiados presentan una diferencia prácticamente constante de desplazamientos químicos entre la conformación helicoidal y la ovillo de +0,7 ppm y +0,2 ppm para las variaciones en las señales correspondientes al NH y al α -CH respectivamente.

Mediante experimentos de dicroísmo circular se obtuvieron evidencias adicionales sobre la transición hélice-ovillo en los polímeros investigados. El estudio se realizó con los derivados n-butilico (PANBLA) e isopropílico (PAIPLA). El espectro de DC del PANBLA en CHCl_3 presenta una banda positiva centrada cerca de 220 nm con una elipticidad molar en el máximo de $1,8 \times 10^4 \text{ deg}\cdot\text{cm}^2/\text{dmol}$ (**Figura 6.10**). Tal como se ha comentado con anterioridad este tipo de espectro es compatible con una conformación helicoidal similar a la conformación hélice-a de los polipéptidos. Como se observa en la **Figura 6.10**, siguiendo los cambios de la elipticidad molar a 222 nm por adición de cantidades sucesivas de TFA, pudo detectarse la transición hélice-ovillo debido a una disminución brusca y sustancial de la elipticidad producida a una cantidad de ácido entre el 2-3%. La misma transición y para una concentración de ácido similar se observó para el derivado isopropílico (**Figura 6.11**). La proporción de ácido a la que se estimó la transición por DC coincide con la que se requiere para observar por RMN ^1H cambios en los desplazamientos químicos, lo cual sugiere que en ambos caso se está observando el mismo rearrreglo conformacional.

Por tanto la transición hélice-ovillo se confirma por dicroísmo circular como una caída de la elipticidad molar hasta valores cercanos a cero, observándose esta en concentraciones de TFA del 2-3%.

A partir del estudio realizado por RMN ^1H y por DC se concluye que para los diferentes poli(β -L-aspartato)s no se aprecian diferencias de comportamiento respecto a la transición hélice-ovillo en función de la constitución del grupo alquilo de la cadena lateral.

Tabla 6.4. Transición hélice-ovillo en poli(β -L-aspartato)s y poli(α -L-glutamato)s

Polímero	%TFA (v/v)	δ (CH, en ppm)		$\Delta\delta$ (CH en ppm)		δ (NH, en ppm)		$\Delta\delta$ (NH, en ppm)
		hélice	ovillo	(H-O)	(H-O)	hélice	ovillo	
PAALAs ^{a)}	2,5-3,0	~5,1	~4,9	~+0,2	~8,6	~7,9	~+0,7	
PABLA ^{b)}	3,0	4,3	4,8	-0,5	8,7	7,7	+1	
PGBLG ^{c)}	14,0	3,9	4,4	-0,5	8,5	7,7	+0,8	

a) Poli(α -alquil- β -L-aspartato)s.b) Poli(α -bencil- β -L-aspartato)s.c) Poli(γ -bencil- α -L-glutamato).

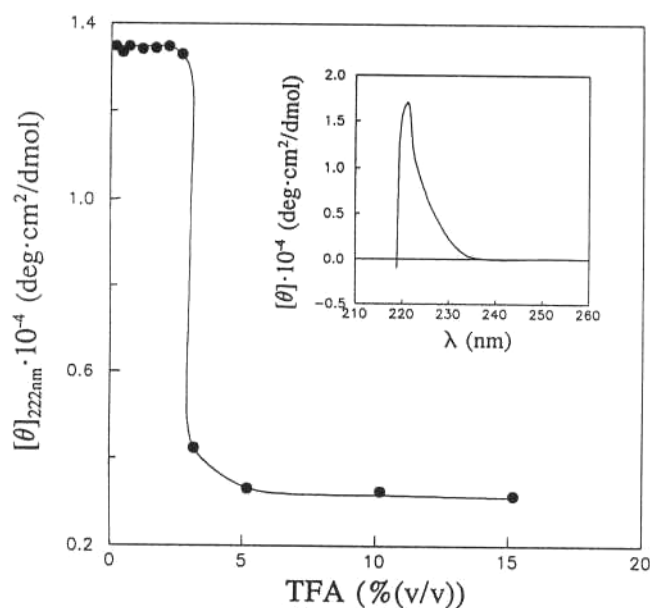


Figura 6.10. Elipticidad molar a 222 nm frente a porcentaje de TFA en CHCl₃ para el poli(α -n-butyl- β -L-aspartato) a 23°C. *Inset:* Espectro de DC del polímero en CHCl₃ puro.

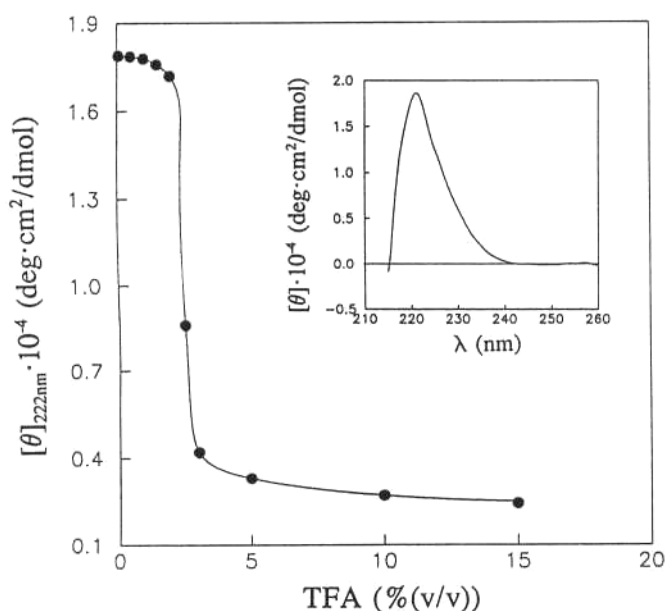


Figura 6.11. Elipticidad molar a 222 nm frente a porcentaje de TFA en CHCl₃ para el poli(α -isopropil- β -L-aspartato) a 23°C. *Inset:* Espectro de DC del polímero en CHCl₃ puro.

6.3.3.2. Transición hélice-ovillo: efecto de la temperatura

Para obtener información adicional sobre la estabilidad de las hélices que presentan los poli(β -L-aspartato)s, se estudió la transición conformacional hélice-ovillo inducida térmicamente. Las investigaciones realizadas hasta la fecha, mayoritariamente en polipéptidos, revelan que en general las transiciones conformacionales inducidas térmicamente son del tipo *inverso*, es decir, la conformación ordenada resulta ser la estable a temperaturas elevadas. La transición denominada *normal* corresponde, por tanto, al paso de hélice a ovillo al elevar la temperatura, tal es el caso de la desnaturalización térmica de las proteínas. A pesar de que, la transición *normal* no es usual en polipéptidos sintéticos y que estos estudios están siempre limitados por la integridad química y física del polímero y del sistema solvente al aumentar la temperatura, ciertos autores han constatado transiciones térmicas dobles. En este sentido McKnight *et al.* (1974) y Teramoto *et al.* (1976) han identificado una doble transición térmica, primero de tipo *inverso* (ovillo a hélice) y luego *normal* (hélice a ovillo) para el poli(β -bencil-L-aspartato) conforme la temperatura aumenta. Ello significa que la forma ovillo del polímero predomina a bajas temperaturas estando las moléculas de ácido interaccionando con los grupos amida. Al aumentar la temperatura se destruyen las uniones entre ácido y polímero y este es capaz de conformarse en hélice. La transición es *inversa* desde un punto de vista entrópico con respecto al polímero, sin embargo si se considera todo el sistema, esto es polímero más solvente, la transición está termodinámicamente justificada.

El estudio sobre la transición conformacional inducida térmicamente en poli(α -alquil- β -L-aspartato)s se efectuó por RMN ^1H y DC. En ambos caso se trabajo con un mezcla CDCl_3/TFA con una concentración de ácido del 2% (v/v). Esta proporción de ácido corresponde a un conformación helicoidal cercana a la región de la transición hélice-ovillo. Por RMN ^1H se han investigado los derivados *n*-butílico, isoamílico y docosílico. Se observa que partiendo de una temperatura inicial de 45 °C y enfriando progresivamente la muestra, las señales inicialmente anchas se agudizan, y además los desplazamientos químicos de las señales correspondientes a NH y α -CH experimentan variación. De esta forma se puede caracterizar la región en la que se produce la transición. En la **Figura 6.12** se muestra esta transición para el derivado isoamílico.

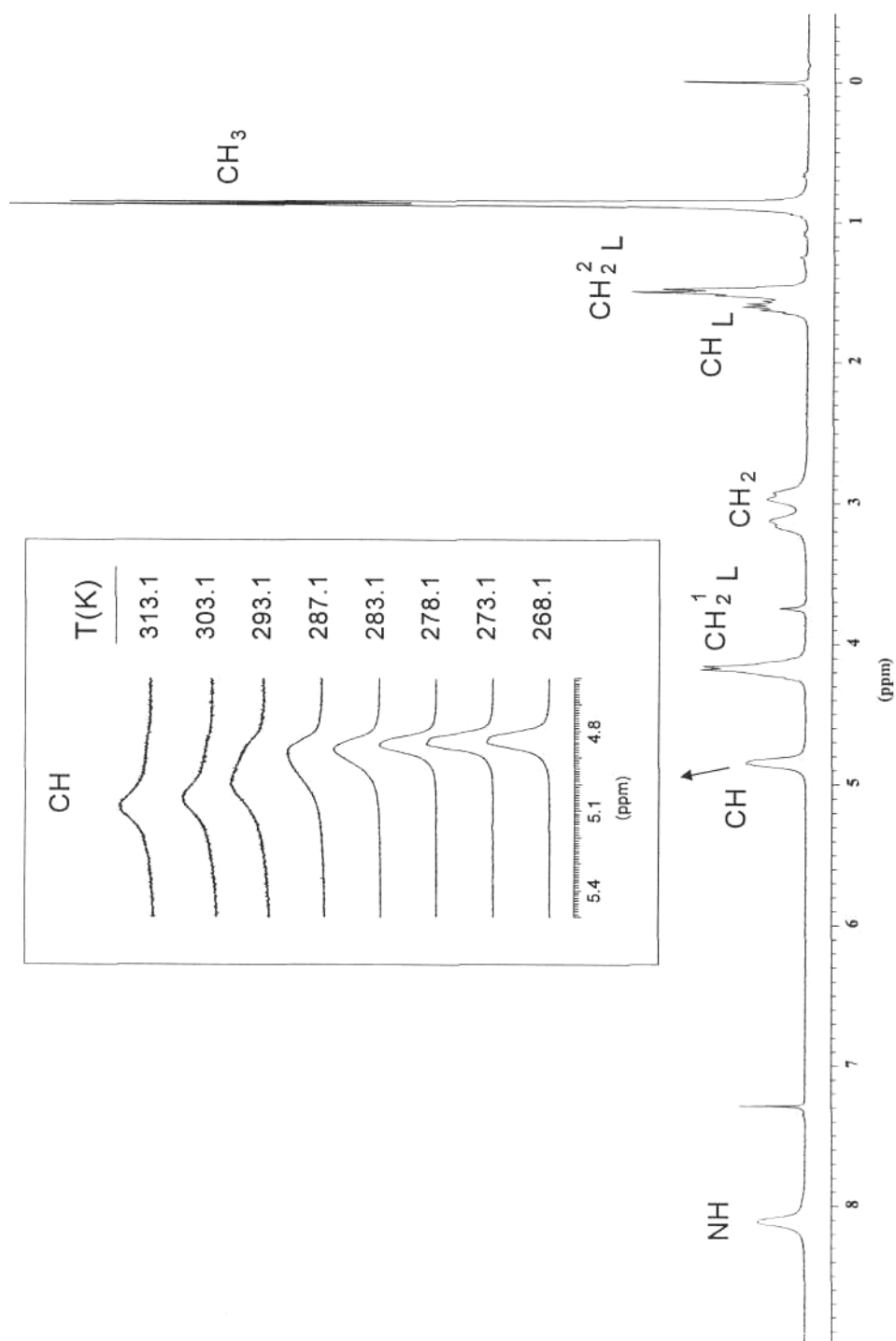


Figura 6.12. Espectro de RMN ^1H para el poli(α -isoamil- β -L-aspartato) en CDCl_3/TFA al 5% (v/v). Se detalla la evolución de la señal del CH con la temperatura en espectros en CDCl_3/TFA al 2% (v/v).

En general, para los polímeros investigados el paso desde una conformación helicoidal a una conformación ovillo al descender la temperatura se produjo alrededor de los 15 °C, comprobándose por tanto que estos poli(β -L-aspartato)s experimentan una transición térmica *inversa*.

Para el derivado isoamílico la transición por efecto de la temperatura se investigó también por dicroísmo circular. En la **Figura 6.13** se muestran los espectros de DC para el PAIALA registrados en una mezcla CHCl_3/TFA con una concentración de ácido del 2% (v/v) a diferentes temperaturas. En la **Figura 6.14** se representa la elipticidad molar a 220 nm para el polímero anterior frente a la temperatura. Puede observarse que partiendo de una temperatura inicial de 40°C, al disminuir esta paulatinamente, la elipticidad experimenta un descenso brusco en el rango de temperaturas entre 10 y 20°C. Este rango de temperatura está en buena concordancia con los datos obtenidos por RMN ^1H .

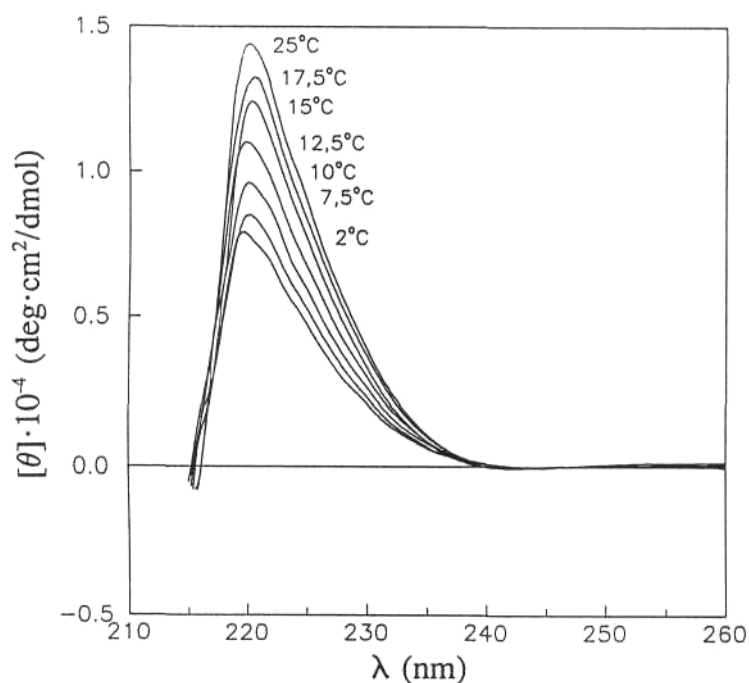


Figura 6.13. Espectros de dicroísmo circular del poli(α -isoamil- β -L-aspartato) en CHCl_3/TFA (2% v/v) a diferentes temperaturas.

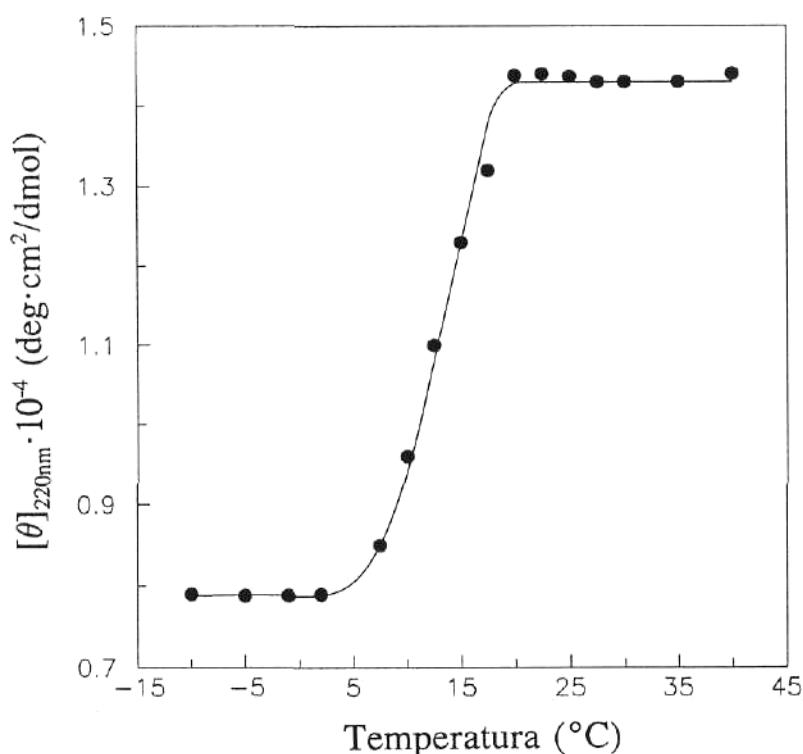


Figura 6.14. Variación de la elipticidad molar a 220 nm con la temperatura para el poli(α -isoamil- β -L-aspartato) en CDCl_3/TFA (2% v/v).

Bajo las condiciones de trabajo empleadas no se evidenció por RMN ni por DC una segunda transición a temperaturas altas, si bien los puntos de ebullición de los solventes utilizados, cloroformo y ácido trifluoroacético, fueron una limitación para investigar a temperaturas superiores a las empleadas.

Se concluye por tanto que los poli(α -alquil- β -L-aspartato)s experimentan una transición conformacional *inversa* inducida térmicamente, de forma que a temperaturas superiores se estabiliza la conformación helicoidal y a bajas temperaturas adoptan la conformación en ovillo estadístico.

6.4. Conclusiones

1. Se han obtenido poli(α -alquil- β -L-aspartato)s estereoregulares con cadenas laterales ramificadas y cíclicas. En todos los casos los rendimientos son aceptables y los polímeros se obtienen con pesos moleculares elevados.
2. El análisis térmico por DSC y TGA de los poli(β -L-aspartato)s estudiados revela que estas poliamidas descomponen térmicamente en dos etapas. En la primera de ellas ocurre la imidación completa del polímero acompañada de la fusión. En la segunda se produce la escisión de la cadena principal.
3. Los espectros de dicroísmo circular de los poli(α -alquil- β -L-aspartato)s, en disolventes helicogénicos, son consistentes con la conformación helicoidal, propuesta para estos polímeros.
4. Los poli(α -alquil- β -L-aspartato)s en conformación helicoidal sufren transición hélice-ovillo estadístico por adición de ácido. Dicha transición es reversible y ocurre en una mezcla CHCl₃/TFA a una concentración de ácido cercana al 2,5% (v/v), independientemente de la constitución del grupo alquilo lateral.
5. Por RMN ¹H y DC se ha comprobado que los poli(α -alquil- β -L-aspartato)s estudiados experimentan una transición conformacional *inversa* inducida térmicamente alrededor de 15°C, de forma que a las temperaturas superiores se estabiliza la conformación helicoidal y a bajas temperaturas adoptan la conformación ovillo estadístico.