



**UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE
COMPOSTELA**

FACULTADE DE QUÍMICA

Curso Académico 2014/2015

Grado en Química

Departamento de Química Orgánica

TRABAJO DE FIN DE GRADO

**SÍNTESIS Y CARACTERIZACIÓN DE
NANOPARTÍCULAS DE ORO CON
RECUBRIMIENTO POLIMÉRICO
QUIRAL**

Lucía Casas Quiroga

Julio 2015

D. EMILIO QUIÑOÁ CABANA, Catedrático del Departamento de Química Orgánica de la Universidad de Santiago de Compostela y D. FÉLIX FREIRE IRIBARNE, Investigador Ramón y Cajal de la Universidad de Santiago de Compostela,

INFORMAN: que la memoria adjunta, titulada ***“SÍNTESIS Y CARACTERIZACIÓN DE NANOPARTÍCULAS DE ORO CON RECUBRIMIENTO POLIMÉRICO QUIRAL”*** presentada por **Lucía Casas Quiroga**, ha sido realizada bajo su dirección en los laboratorios del Centro de Investigación en Química Biológica y Materiales Moleculares (CIQUS). Considerando que constituye un trabajo de Fin de Grado, autorizan su presentación en la Facultad de Química de la Universidad de Santiago de Compostela.

Para que así conste, expiden el presente informe en Santiago de Compostela a 10 de julio del 2015.

Santiago de Compostela a 10 de julio de 2015

Emilio Quiñoá Cabana

Félix Freire Iribarne

ADN	Ácido desoxirribonucleico
AFM	Microscopía de Fuerza Atómica
ap	Antiperiplanar
AuNP	Nanopartículas de Oro
CD	Dicroísmo Circular
δ	Desplazamiento químico
d	Doblete
D	Dispersión
DIPEA	Diisopropiletilamina
DCM	Diclorometano
DLS	Dispersión dinámica de luz
DMSO	Dimetilsulfóxido
DRX	Difracción de Rayos X
DSC	Calorimetría de barrido diferencial
EDC	1-etil-3-(3-dimetilaminopropil)carbodiimida
equiv	Equivalentes
g	Gramos
h	Horas
HATU	2-(7-Azabenzotriazol-1-il)-1,1,3,3-tetrametiluronium hexafluorofosfato
HOAt	1-Hidroxi-7-azabenzotriazol
Hz	Hertzios
IR	Infrarrojo
m	Multiplete
M1	(<i>R</i>)-N-(4-etilfenil)-2-metoxi-2-fenilacetamida
M2	Perfluorofenil 5-((4-etilfenil)amino)-5-oxopentanoato
mg	Miligramos
min	Minutos
mL	Mililitros
Mmol	Milimol
M_n	Peso molecular medio numérico

M _w	Peso molecular medio en peso
MPA	Ácido- α -Metoxifenilacético
nbd	Norboradieno
°C	Grados centígrados
PDI	Índice de Polidispersión
ppm	Partes por millón
PPA	Polifenilacetileno
RMN	Resonancia Magnética Nuclear
s	Singlete
SEC	Cromatografía de exclusión por tamaños
sp	Sinperiplanar
SEM	Microscopía electrónica de barrido
T _a	Temperatura ambiente
TEM	Microscopía de transmisión electrónica
TFA	Ácido trifluoroacético
THF	Tetrahidrofurano
TMS	Trimetilsilano
TOAB	Bromuro de tetraoctilamonio
TrMA	Metilmetacrilato
UV/VIS	Ultravioleta/Visible

ÍNDICE

ABSTRACT	7
1. INTRODUCCIÓN	9
1.1) LAS HÉLICES COMO ESTRUCTURA BÁSICA DE MACROMOLÉCULAS A LO LARGO DE LA HISTORIA	9
1.2) CLASIFICACIÓN DE LOS POLÍMEROS HELICOIDALES.....	11
1.2.1) Polímeros helicoidales estáticos	11
1.2.2) Polímeros helicoidales dinámicos	11
1.3) POLIFENILACETILENOS	13
1.4) PROPIEDADES DE LOS POLIFENILACETILENOS	14
1.4.1) Amplificación de la helicidad molecular	14
1.4.2) Inversión de la helicidad macromolecular	16
1.5) ESTRUCTURA SECUNDARIA DE POLIFENILACETILENOS	18
1.6) NANOMATERIALES	19
1.7) NANOPARTÍCULAS DE ORO	20
1.8) CONJUGACIÓN DE NANOPARTÍCULAS DE ORO Y POLÍMEROS HELICOIDALES	22
2. OBJETIVOS	25
3. PLANTEAMIENTO	27
4. DISCUSIÓN DE RESULTADOS	31
4.1) ESTUDIOS DE CROMATOGRAFÍA DE EXCLUSIÓN POR TAMAÑOS (GPC/SEC)	31
4.2) ESTUDIOS DE DICROÍSMO CIRCULAR Y ULTRAVIOLETA.....	32
4.3) ESTUDIOS DE AGREGACIÓN. MEDIDAS DE DISPERSIÓN DINÁMICA DE LA LUZ (DLS), SEM Y TEM.....	36
5. CONCLUSIONS	39
6. BIBLIOGRAFÍA.....	41
7. EXPERIMENTAL.....	43
7.1) GENERAL.....	43
7.2) SÍNTESIS Y CARACTERIZACIÓN	44

ABSTRACT

ABSTRACT

Polymers research field has been deeply studied during the last decades. The knowledge of their structure is essential in order to relate it to their properties and applications. These studies include the synthesis, characterization and structure elucidation of polyphenylacetylenes, which adopt helical structures. The helicity can be tuned towards the left or right handed helical sense by the addition of external stimuli such as temperature, pH, solvent polarity, chiral molecules or metal ions, among others. Because of that, these polymers can act as potential sensors, among other applications.

On the other hand, gold nanoparticles have remarkable properties which makes them really useful: they can be synthesized with different sizes and they also can be easily functionalized with a wide range of ligands. They also present excellent optical and photothermal properties.

The conjugation of natural polymers with gold nanoparticles has set a revolution, especially in the field of biomedicine. Nevertheless, the use of synthetic polymers as coating for gold nanoparticles has not been deeply studied.

Here, we present a system based on the assembly of gold nanoparticles and a synthetic copolymer composed by polyphenylacetylenes. It was proved that the presence of AuNP does not eliminate the ability of the copolymer to respond to external stimuli.

INTRODUCCIÓN

1. INTRODUCCIÓN

Las estructuras biológicas de polímeros naturales como ADN o proteínas han sido objeto de estudio durante el último siglo, y los descubrimientos realizados muestran una íntima relación entre su estructura secundaria y las funciones que desempeñan. Uno de los motivos que se repiten con más frecuencia son las estructuras helicoidales, siendo el enlace de hidrógeno la principal interacción estabilizadora de esta estructura.

El esfuerzo investigador destinado a emular estas estructuras, sus propiedades y actividad biológica dio como resultado la aparición de polímeros helicoidales sintéticos, los cuales presentaban una serie de interesantes propiedades como emisión de luz, fotorresistencia o autoensamblaje.

1.1) LAS HÉLICES COMO ESTRUCTURA BÁSICA DE MACROMOLÉCULAS A LO LARGO DE LA HISTORIA

La historia de las macromoléculas helicoidales se remonta al hallazgo de la conformación de varios polímeros naturales, como la estructura de la (*R*)-amilasa, propuesta por Hanes en 1937¹ y extendida por Freudenberg.²

Años más tarde, a principios de la década de los 50, tuvieron lugar los dos descubrimientos más importantes de la biología molecular: la estructura de la α -hélice, propuesta por Pauling en 1951³ y la estructura de la doble hélice de ADN, propuesta por Watson y Crick en 1953⁴, con ayuda de los trabajos de Chargaff, Franklin y Wilkins.

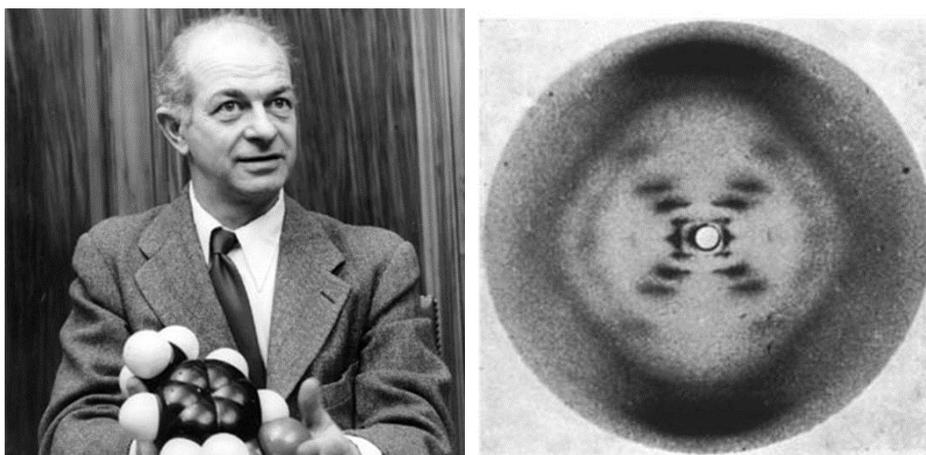


Figura 1: Linus Pauling, descubrimiento de la α -hélice de las proteínas. Fotografía 51: imagen del ADN obtenida mediante difracción de rayos X.

En 1955, Natta descubrió que el polipropileno isotáctico (sintetizado con el catalizador de Ziegler-Natta) presenta una estructura helicoidal en estado sólido, aunque esa hélice posee una conformación aleatoria *R* y *S* en su estructura cristalina. Sin embargo, en disolución es bastante inestable.

Este hallazgo significó el comienzo en el estudio de las macromoléculas helicoidales sintéticas, el cual fue clave para las posteriores investigaciones en la química de polímeros.⁵ También demostró que la tendencia de la naturaleza a formar especies estereorregulares, puede ser superada variando las condiciones de reacción.

Desde el descubrimiento de Natta, se han producido importantes progresos en el diseño de este tipo de polímeros, capaces de adoptar una helicidad definida incluso en disolución, y existen numerosas publicaciones con descripciones detalladas sobre ellos. En esta introducción se mostrará un breve resumen.

En los años 60, Pino y colaboradores prepararon una serie de polímeros vinílicos isotácticos polimerizando olefinas sustituidas en α con inductores quirales (ópticamente activos). Se consiguió una conformación helicoidal con exceso de un sentido de giro en disolución. A priori, cabe esperar que el hecho de introducir sustancias quirales favorezca un determinado sentido de giro en la poli(olefina).⁶

Años después, Okamoto (1979) preparó el primer polímero vinílico helicoidal mediante polimerización de un monómero aquiral, trifenilmetil metacrilato (TrMA), usando iniciadores aniónicos quirales, capaces de formar una hélice con un único sentido de giro. De este modo se obtuvo un polímero helicoidal totalmente isotáctico con un marcado reconocimiento quiral para una serie de compuestos racémicos y que era además estable en disolución.⁷ (Figura 2)

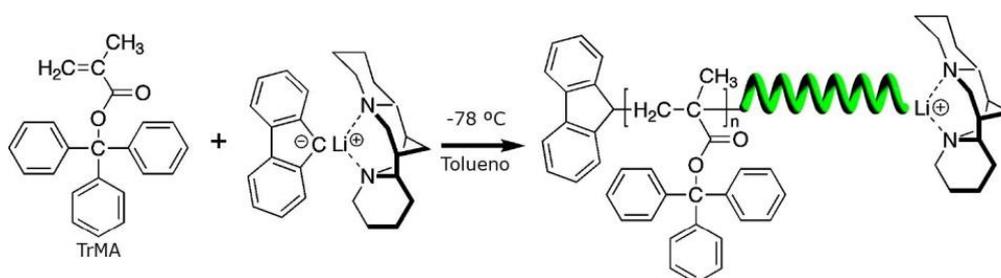


Figura 2: Polimerización de monómero aquiral de TrMA.

Paralelamente a este hallazgo, Green dio a conocer otra clase de polímeros helicoidales: los polímeros dinámicos, que consistían en una serie de poli(isocianatos) rígidos con estructuras similares a “bastoncillos”. Estos compuestos, desprovistos de centros estereogénicos, constituían una mezcla aleatoria de las dos conformaciones helicoidales posibles (sentido de giro a derecha o a izquierda) debido a que la barrera energética de inversión helicoidal es bastante baja. De esta forma, una pequeña predisposición quiral puede transformarse en un cambio conformacional de la cadena principal mediante una amplificación de la quiralidad a lo largo de toda la cadena, o lo que es lo mismo, un efecto dominó.⁸

1.2) CLASIFICACIÓN DE LOS POLÍMEROS HELICOIDALES

Teniendo en cuenta el resumen hecho sobre la evolución en la investigación de los polímeros helicoidales naturales y sintéticos podemos clasificar estos últimos en dos grandes conjuntos: estáticos y dinámicos. La diferencia principal entre ellos radica en la energía de interconversión entre ambas conformaciones helicoidales (giro a derecha o a izquierda). Esta barrera energética determina sus diferentes comportamientos y propiedades.

1.2.1) Polímeros helicoidales estáticos

Son polímeros que adoptan una estructura helicoidal con un sentido de giro definido durante la síntesis. Los monómeros que los conforman poseen grupos muy voluminosos de manera que una vez que se ha sintetizado la hélice, por problemas de impedimento estérico, su sentido de giro no se puede modificar. Presentan una barrera energética de interconversión helicoidal alta, de forma que adquieren una estructura helicoidal estable, incluso en disolución. Algunos ejemplos de polímeros helicoidales estáticos son los poli(isocianuros), los poli(trifenilmetilmetacrilatos), o los poli(cloral).

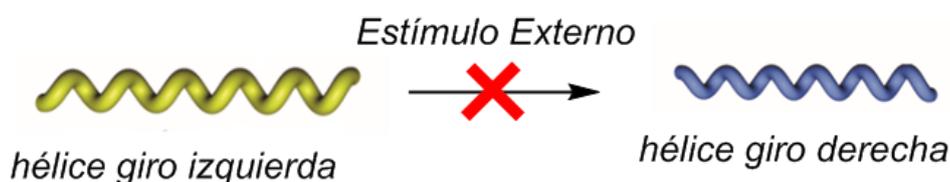


Figura 3: Polímeros helicoidales estáticos.

La síntesis de este tipo de polímeros puede realizarse bien por la polimerización de monómeros ópticamente activos o por la polimerización asimétrica de monómeros aquirales o proquirales con iniciadores o catalizadores quirales. En estos métodos sintéticos, las estructuras helicoidales de los polímeros aparecen debido a sustituyentes unidos covalentemente al esqueleto del polímero o al control cinético durante la polimerización.⁹

1.2.2) Polímeros helicoidales dinámicos

Este grupo está formado por polímeros que adoptan, durante la síntesis, los dos tipos de giro de la hélice, dextrógiro y levógiro, pudiendo coexistir en diferente proporción dentro del mismo polímero y encontrándose ambas hélices separadas por un giro reverso. El sentido de giro de la hélice se puede modificar mediante la aplicación de estímulos externos (pH, temperatura, polaridad, especies quirales). Estos agentes externos son los responsables de la aparición de los siguientes fenómenos:

- **Inversión de helicidad:** cuando el polímero adopta preferentemente un sentido de giro de la hélice durante la síntesis, que se puede invertir mediante aplicación de estímulos externos.
- **Amplificación de la quiralidad:** cuando el polímero de partida no posee un sentido de giro definido, pero la presencia de agentes externos provoca la amplificación del sentido de giro a izquierda o a derecha.

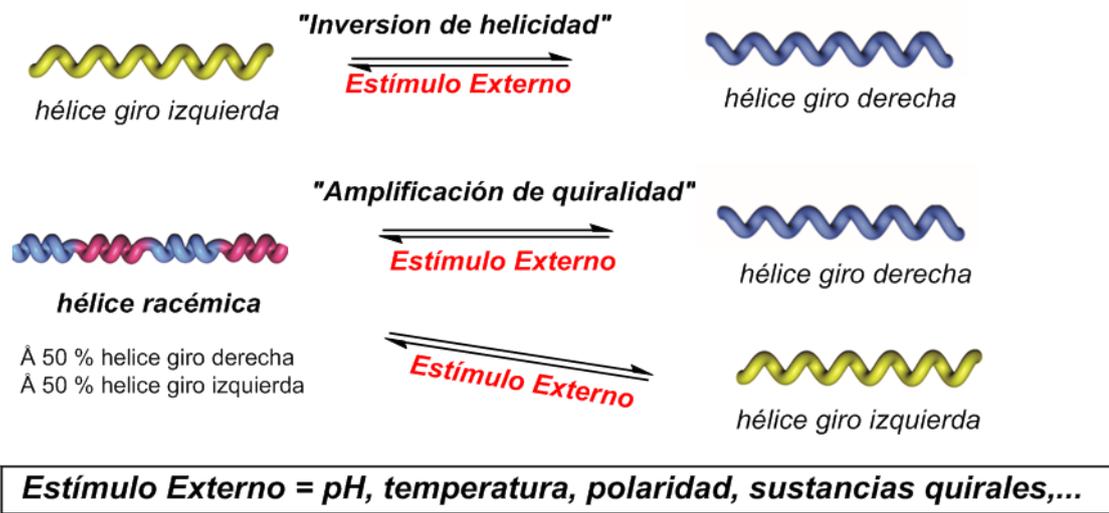


Figura 4: Control de la helicidad en polímeros helicoidales dinámicos.

La síntesis de este tipo de polímeros puede realizarse de tres formas:

- Realizando la polimerización de monómeros aquirales con un iniciador aniónico quiral de forma similar a los anteriores polímeros, pero limitado a monómeros voluminosos para la obtención de polímeros con cadenas cortas.
- Polimerización de monómeros ópticamente activos, que nos dará preferentemente una de las hélices.
- Adición de un disolvente o aditivo quiral, que consiste en la alteración del equilibrio entre ambas hélices (levógira o dextrógira) de un polímero sin actividad óptica (las dos hélices están en igual proporción y en equilibrio).

Estos sistemas son la base para la construcción de materiales novedosos con el objetivo de actuar como sensores quirales, principio universal y aplicable a otros sistemas poliméricos y supramoleculares.

Entre los principales polímeros helicoidales dinámicos encontramos, aparte de los ya mencionados, los poli(isocianatos), los poli(silanos) y los poli(acetilenos).⁹ Los poli(acetilenos) se preparan por la polimerización de ésteres propiónicos, *N*-propargilamidas y fenilacetilenos con sustituyentes ópticamente activos o por la copolimerización con acetilenos aquirales. Normalmente, para su síntesis se usan catalizadores de rodio como $[\text{Rh}(\text{nbd})]\text{Cl}_2$.

1.3) POLIFENILACETILENOS

Los polifenilacetilenos son un tipo de polímeros helicoidales dinámicos que destacan por su flexibilidad, lo que los hace muy interesantes. Para que un polímero adopte una estructura helicoidal, es necesario que los dobles enlaces conjugados se encuentren en posición *cis-cisoid*e o *cis-transoid*e, conformaciones que favorecen la formación de la hélice.

Por el contrario, si dichos dobles enlaces se hallan en configuración *trans-cisoid*e o *trans-transoid*e, la estructura helicoidal se pierde.¹⁰

Actualmente hay catalizadores como $[\text{Rh}(\text{nbd})\text{Cl}]_2$, el cual da lugar a polímeros con un alto contenido en enlaces *cis* y con altos rendimientos. La configuración *cis* de los dobles enlaces se puede identificar fácilmente mediante técnicas espectroscópicas, como el desplazamiento químico del protón vinílico en RMN, o la frecuencia de las bandas de resonancia Raman del esqueleto fenilacetilénico.

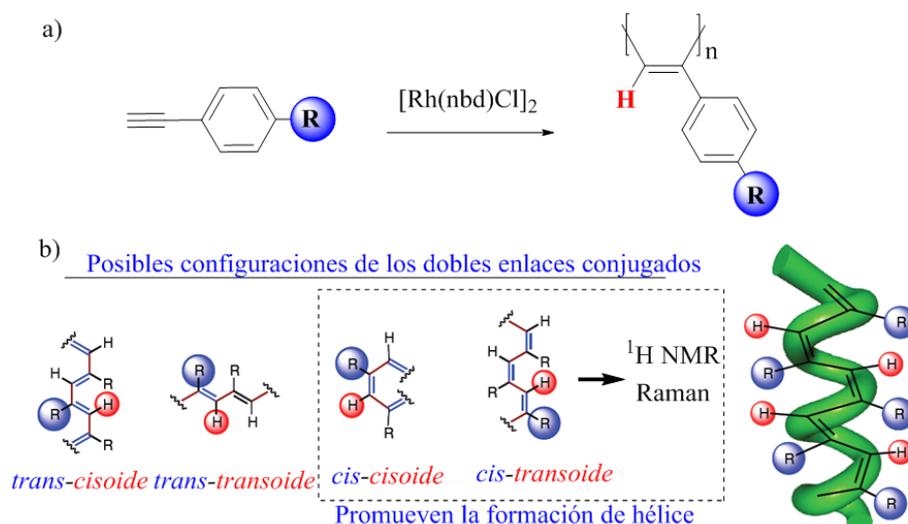


Figura 5: a) Síntesis de un polifenilacetileno con el catalizador $[\text{Rh}(\text{nbd})\text{Cl}]_2$ **b)** Obtención de una hélice con giro irregular y ópticamente inactiva.

1.4) PROPIEDADES DE LOS POLIFENILACETILENOS

Las propiedades más significativas de este tipo de compuestos son: la inducción de la helicidad macromolecular, el efecto memoria y la inversión de la helicidad macromolecular mediante agentes externos.⁹

1.4.1) Amplificación de la helicidad molecular

Normalmente, para que se produzca este fenómeno, se parte de un polímero cuya unidad de repetición monomérica es aquiral, que dará lugar a cadenas poliméricas con un 50% de hélice levógira y un 50% de hélice dextrógira, es decir, racémicas desde un punto de vista macroscópico. En estos sistemas la adición de una sustancia quiral da lugar a la formación de un complejo supramolecular, el cual, induce un determinado sentido de giro dependiente de la configuración del sustrato quiral. Otra posibilidad consiste en partir de un polímero con un “*pendant*” quiral que presente un equilibrio conformacional entre dos estructuras. En este sistema la amplificación de la helicidad se logra mediante la adición de estímulos aquirales, los iones metálicos.

En general, los polifenilacetilenos son particularmente flexibles y dinámicos, de manera que una pequeña variación, por ejemplo en la temperatura o la adición de una cantidad muy pequeña de un metal, va a inducir la helicidad en un fragmento del polímero y el efecto provocado en ese fragmento se va a transmitir al resto de la cadena como un efecto dominó con el fin de reducir el coste energético.⁹

1.4.1.1) INDUCCIÓN Y EFECTO MEMORIA DE LA HELICIDAD MACROMOLECULAR

El fenómeno de la inducción quiral en poli(acetilenos) es una propiedad dinámica. Así, al retirar los inductores quirales desaparece la inducción de la helicidad. Sin embargo, Yashima y sus colaboradores descubrieron que en algunos compuestos la helicidad inducida por aminas quirales, se mantenía “memorizada”, ya que cuando reemplazaban la amina quiral por una aquiral, o directamente eliminaban del medio la amina quiral, el polímero mantenía la helicidad que había adoptado en presencia de la amina quiral.¹¹ Este efecto “memoria” fue explicado a través de la estabilización de la configuración helicoidal debida a las repulsiones electrostáticas intramoleculares entre las cadenas laterales vecinas con cargas negativas complejadas con las aminas de carga opuesta, llevando a una fuerte supresión de la inversión de las hélices de los polímeros.

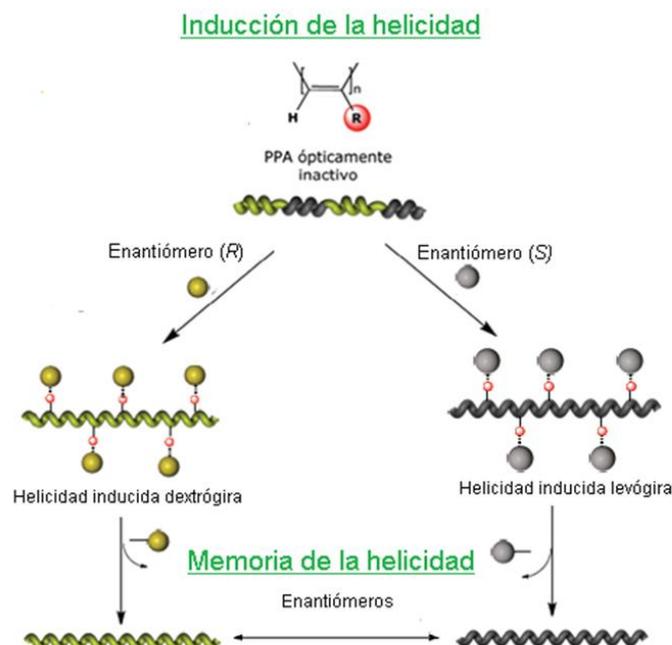


Figura 6: Esquema en el que se representan la inducción de helicidad y el efecto memoria en los polifenilacetilenos.

1.4.1.2) AMPLIFICACIÓN DE QUIRALIDAD MEDIANTE EL USO DE IONES METÁLICOS

Para poder amplificar el sentido de giro de la hélice de un polímero mediante el uso de iones como agentes no quirales externos, es necesario emplear un polifenilacetileno con un “*pendant*” quiral y que además presente un equilibrio conformacional definido entre dos estructuras.

Por esta razón, en nuestro grupo de investigación se diseña un monómero, la 4-etinilamida del ácido (*R*)-ácido α -metoxifenilacético (MPA), que presenta en disolución un equilibrio conformacional entre sus dos estructuras mayoritarias: *sp* y *ap*. En la conformación *sp*, el grupo carbonilo y el metoxilo se encuentran en disposición sinperiplanar, mientras que en la conformación *ap* se encuentran en disposición antiperiplanar.¹²

Al adicionar una sal metálica de un ión monovalente (perclorato de Li^+ , Na^+ , Ag^+) a una disolución del polímero Poli-(*R*)-MPA en cloroformo, aparece un efecto Cotton negativo en la región vinílica (380 nm) del polifenilacetileno. Por el contrario, al adicionar la sal de un ión divalente (perclorato de Mg^{+2} , Ca^{+2} , Mn^{+2} , Ni^{+2} , Zn^{+2} , Pb^{+2} , Ba^{+2} , Hg^{+2} , Co^{+2}) se observa el efecto contrario, apareciendo un efecto Cotton positivo en dicha región. Este hecho es indicativo de que el polímero responde de manera distinta, dependiendo de cuál sea la valencia del ión metálico, por lo que se le puede considerar como un sensor de la valencia de los iones metálicos. (Figura 7). Con el polímero enantiomérico, tal y como cabría esperar, se obtienen los resultados contrarios.

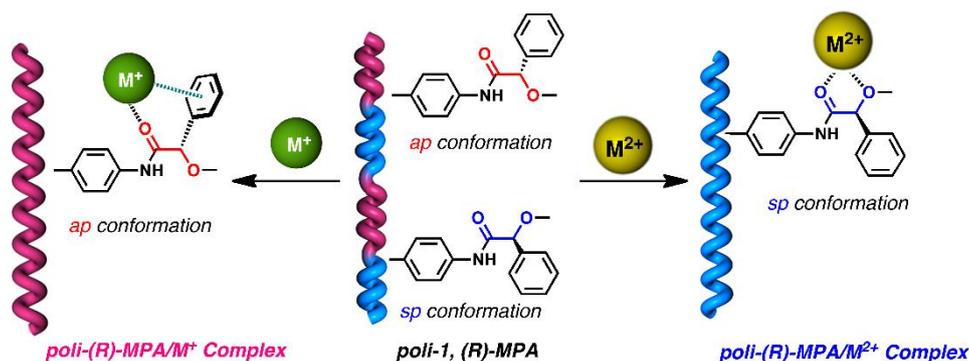


Figura 7: Esquema de la amplificación de la quiralidad en el Poli-(R)-MPA por la presencia de cationes metálicos.

Con el fin de elucidar las conformaciones responsables de los efectos Cotton positivo y negativo se realizaron estudios de espectroscopia infrarroja. En dichos estudios se analizaron los cambios observados en las bandas como consecuencia de la adición de iones metálicos.

Las pruebas revelaron que al adicionar un ión metálico monovalente, la única banda que se desplaza en el infrarrojo es la que se corresponde con el grupo carbonilo, y por lo tanto en este caso el metal se coordina exclusivamente a este grupo. Sin embargo, al adicionar un ión metálico divalente, se observan desplazamientos en las bandas correspondientes al grupo carbonilo y al metoxilo, lo que sugiere que el ión divalente se coordina a ambos fijando la conformación *sp*. Dicha conformación, *sp*, es la responsable de la generación de una hélice predominante con efecto Cotton positivo en la región vinílica. En el caso de la adición del ión metálico monovalente, la conformación fijada en el “*pendant*” es *ap*, responsable de la generación mayoritaria de una hélice con efecto Cotton negativo en la región vinílica.

1.4.2) Inversión de la helicidad macromolecular

Las macromoléculas biológicas manifiestan cambios estructurales al ser sometidas a cambios de temperatura o salinidad del medio. De forma análoga, los polímeros helicoidales sintéticos muestran transiciones en sus estructuras helicoidales y racemización, siendo este un proceso irreversible.¹³

1.4.2.1) INVERSIÓN DE LA HELICIDAD DEBIDA A LA POLARIDAD DEL DISOLVENTE

En nuestro grupo de investigación hemos desarrollado un polímero helicoidal sensible a la polaridad y al carácter dador/aceptor de los disolventes orgánicos.¹³ Se trata de un sensor dual, ya que los enlaces sensibles al carácter polar y dador del disolvente son distintos, hecho que dará lugar a cuatro estructuras helicoidales diferentes dependiendo si el disolvente es dador/poco polar, dador/polar, no dador/poco polar y no dador/polar. (Figura 8)

La manipulación controlada del sentido de giro de los polímeros helicoidales, es un objetivo ambicioso debido al gran potencial que presentan estos compuestos para el desarrollo de materiales como sensores quirales, máquinas moleculares, materiales conductores, sistemas de almacenamiento de memoria, etc.

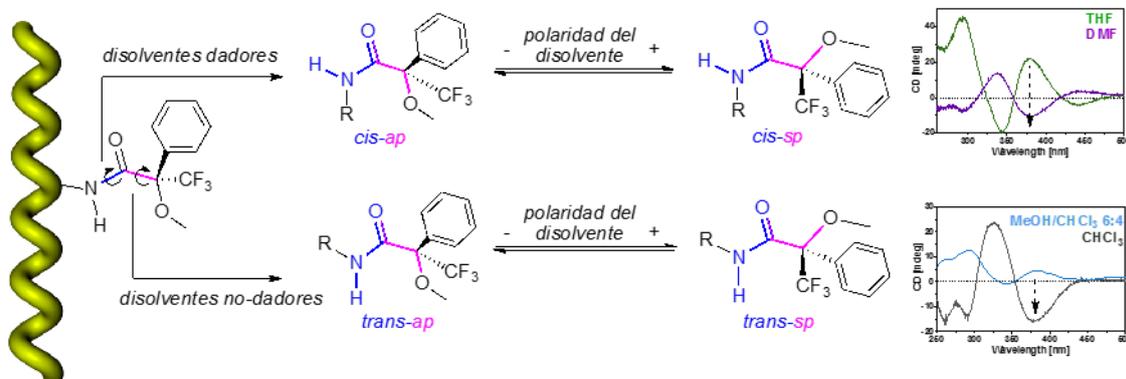


Figura 8: Inversión de la helicidad debido a la polaridad del disolvente.

1.4.2.2) INVERSIÓN DE LA HELICIDAD MEDIANTE EL USO DE IONES METÁLICOS

La formación de complejos ión metálico/polímero helicoidal puede ser utilizada para producir un cambio en la estructura helicoidal del polímero. En este contexto, en nuestro grupo de investigación, se demostró que el equilibrio conformacional del polímero formado a partir del ácido 4-etilbenzoico derivatizado con la fenilglicinametil éster podía modificarse, además de con cambios en la polaridad de los disolventes, con la adición de iones metálicos. De este modo, si el polímero presenta una conformación mayoritaria de tipo *ap* en disolventes poco polares, la adición de un ión metálico va a provocar un cambio conformacional en su estructura, pasando a tener una conformación mayoritaria de tipo *sp*.¹⁴ (Figura 9)

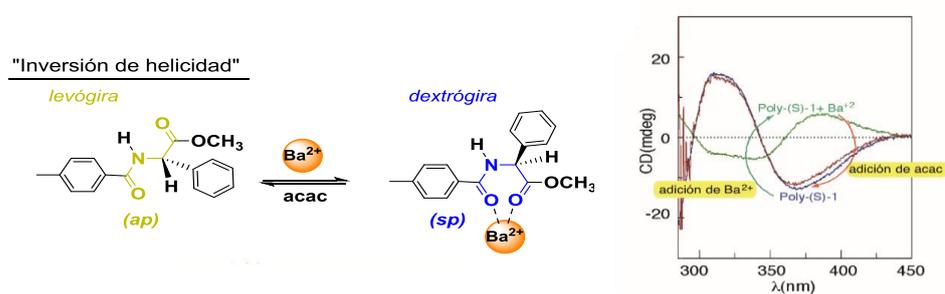


Figura 9: Inversión de la helicidad debido a la interacción con iones metálicos.

1.5) ESTRUCTURA SECUNDARIA DE POLIFENILACETILENOS

El hecho de poder conocer la estructura exacta de un polímero es muy importante, ya que nos va a permitir comprender mejor el mecanismo de formación de una hélice y de este modo correlacionar su estructura con sus propiedades. Además, esto va a permitir un mejor diseño de nuevos polímeros helicoidales en un futuro. Los métodos generales para el análisis de la estructura de los polímeros pueden dividirse en tres grupos:

- a. Análisis mediante espectroscopía: que incluye las técnicas de RMN, rotación óptica, CD y VCD, IR, rayos X y espectroscopía de absorción.
- b. Microscopía: SEM, TEM, AFM y STM.
- c. Cálculos computacionales

El sentido de giro de las hélices de un polifenilacetileno puede ser determinado, fundamentalmente por dos técnicas: CD (mediante el método del excitón quiral) y AFM.¹⁵

En método del excitón quiral consiste en que, cuando dos o más cromóforos cercanos en el espacio constituyen un sistema quiral los momentos de transición eléctrica más fuertes van a interactuar, por lo que los niveles de energía de los estados excitados se van a dividir, reflejándose el resultado en los espectros del CD. Estos cromóforos pueden ser diferentes y pertenecer a distintas moléculas.

La técnica de UV-vis se usa complementariamente con la de CD para ver el grado de conjugación de los dobles enlaces del esqueleto acetilénico. Una hélice comprimida tendrá mayor conjugación y una estirada, menos.

La información que nos proporciona la técnica de CD, no es suficiente para determinar el sentido de giro del polifenilacetileno. Para ello, debemos recurrir a la técnica de AFM y a la mecánica molecular.

Las técnicas de RMN, absorción e IR pueden proporcionarnos también información con alto contenido estructural relacionado con la conformación, configuración y ordenamiento molecular de los polímeros helicoidales, principalmente en disolución. La difracción de rayos X (XRD) es una técnica muy valiosa para la obtención de información sobre polímeros en estado sólido donde existe una ordenación estructural.^{16,17,18} No obstante, presenta una gran desventaja, siendo esta la dificultad de obtener muestras cristalinas. Por otro lado, las técnicas de microscopía (TEM, SEM) aportan información sobre los agregados formados, aunque presentan problemas por la resolución. Han de ser apoyadas por otros datos.

Las microscopías del tipo AFM y STM aportan información detallada de la estructura helicoidal del polímero (sentido de giro de los “*pendants*”, “*helical pitch*”, etc) El problema de estas técnicas es el poder llegar a generar una monocapa de polímero (grosor sobre 2 nm). La técnica Calorimetría Diferencial de Barrido (DSC) determina si el polímero adopta una estructura *cis-cisoide* (ángulo del plano diedro entre dobles enlaces consecutivos $< 90^\circ$) o *cis-transoide* (ángulo del plano diedro entre dobles enlaces consecutivos $> 90^\circ$), ya que cada una de estas estructuras del esqueleto polifenilacetileno presenta un termograma característico.^{19,20} (Figura 10) Finalmente, los cálculos computacionales son una poderosa técnica que puede ser muy útil a la hora de avalar de forma comparativa los resultados experimentales con estudios teóricos.

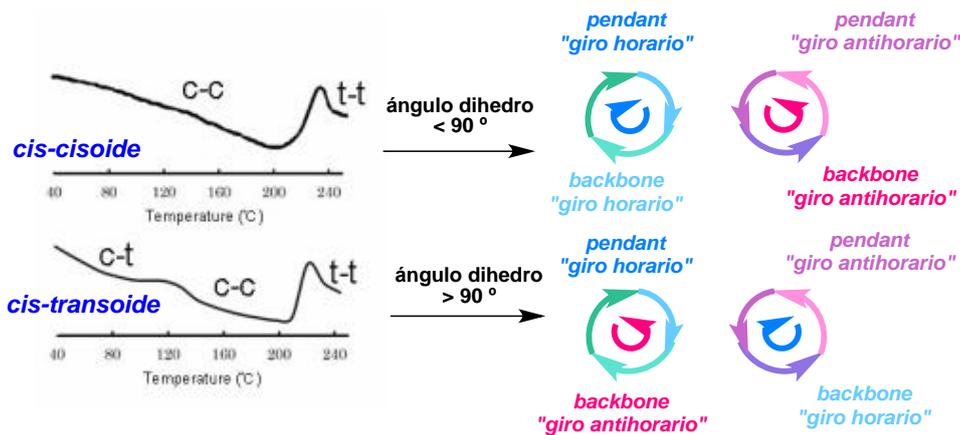


Figura 10: Termogramas de estructuras *cis-cisoid* y *cis-transoid* de polifenilacetilenos. Hélices descritas por estructuras *cis-cisoides* y *cis-transoides*.

1.6) NANOMATERIALES

Un nanomaterial se define como todo material natural, incidental o manufacturado que contiene partículas no enlazadas, agregadas o aglomeradas y donde el 50% o más de las partículas tienen una o más dimensiones externas en el margen de 1 a 100 nm.

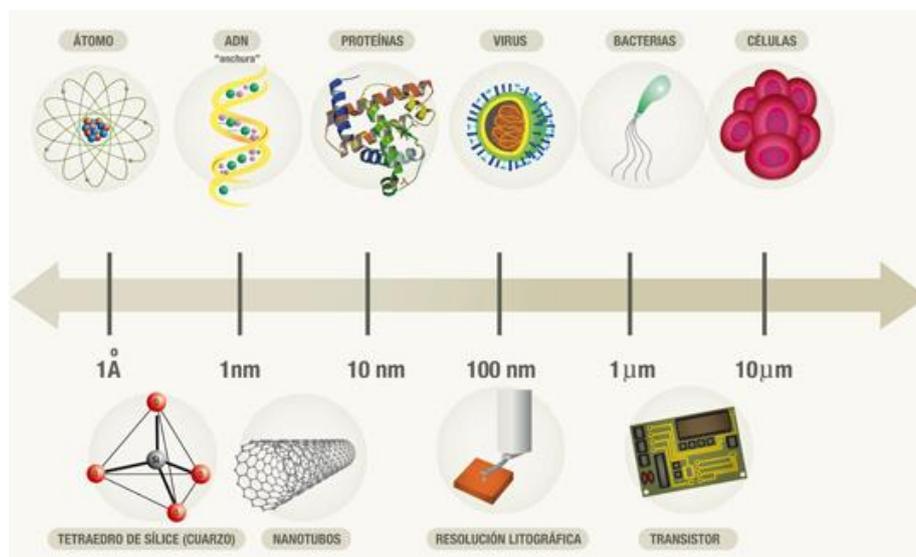


Figura 11: Comparación del tamaño relativo de varias estructuras.

Las propiedades de muchos materiales pueden cambiar completamente cuando sus dimensiones alcanzan el tamaño nanométrico, de ahí que constituyan un importante objeto de estudio. Sustancias opacas se vuelven transparentes (cobre), materiales inertes logran propiedades catalíticas (platino), materiales estables cambian a combustibles (aluminio), o bien aislantes convertidos en conductores (silicio). Los materiales como el oro, que es químicamente inerte a escala normal, pueden servir como catalizador químico potente a nanoescala.

El movimiento de electrones en un nanomaterial está limitado por sus dimensiones, y la proporción de átomos en la superficie con respecto al interior es mucho más alta que en materiales de tamaño mayor. Por consiguiente, si reducimos el tamaño de un material se podrán observar diferentes propiedades, hecho que puede culminar con el diseño de materiales con propiedades a la carta.

Las aplicaciones de estos materiales abarcan muchos y muy diversos campos de la química, en los que destaca su uso como sensores, en electrónica o como materiales ópticos. A continuación se enumerarán algunas de estas aplicaciones, cuyo objetivo es demostrar el gran potencial que exhibe este campo de investigación: recubrimientos anti reflectantes, sensores de luz para el diagnóstico del cáncer, nuevos condensadores más efectivos para teléfonos móviles, obtención de pantallas más brillantes y eficientes, recubrimientos antibacterianos en vendajes, sensores para la detección de enfermedades, sistemas de suministro de medicamentos programados, recuperación de suelos, tratamiento de emisiones industriales, sistemas para detección de contaminantes en bajas concentraciones...

Las nanopartículas metálicas y semiconductoras presentan propiedades cuánticas muy útiles e interesantes incluyendo nuevas propiedades electrónicas, ópticas y químicas. Estas nanopartículas se pasivan, generalmente, con una monocapa orgánica que evita su aglomeración y facilita la confección de nuevas propiedades químicas a través de la síntesis orgánica.²¹

Las propiedades de los sistemas basados en nanopartículas pueden ser controladas mediante sus características, como la forma, el tamaño o la composición del núcleo, y también mediante factores ambientales como el espacio entre partículas o la presencia de un medio dieléctrico.

Un esfuerzo sustancial ha sido destinado a realizar una clasificación de las nanopartículas en cero, una, dos y tres dimensiones. Sin embargo, la capacidad para crear este tipo de compuestos reside en la comprensión y el control de los procesos de ensamblaje de estos materiales. Se incluyen aquí las técnicas "*bottom up*" (autoensamblaje) y "*top down*".²¹

Las técnicas "*bottom up*" consisten en la síntesis de nanopartículas que después forman agregados mientras que en las técnicas "*top down*", materiales de mayor tamaño son reducidos hasta el tamaño nanométrico. La sinergia entre estos dos enfoques proporciona nuevas vías para la creación de materiales funcionales.

1.7) NANOPARTÍCULAS DE ORO

Las potenciales aplicaciones de los nanomateriales han despertado un gran interés en nuestro grupo de investigación, en especial las nanopartículas de oro (AuNP) debido a la facilidad de su síntesis y funcionalización, estabilidad química, baja toxicidad, biocompatibilidad (muy importante para sus potenciales aplicaciones en biomedicina) y propiedades ópticas y electrónicas que pueden ser moduladas (absorción, fluorescencia, conductividad...) Destacan especialmente sus peculiares propiedades fototérmicas, gracias a las cuales, cuando las AuNP son activadas en presencia de luz láser desprenden calor, actuando como auténticos «nanocalefactores».

Las AuNP presentan un extraordinario potencial como agentes fototerapéuticos en el tratamiento del cáncer, así como para la elaboración de nanoestructuras útiles para el transporte y la vectorización selectiva de fármacos y macromoléculas terapéuticas, y también en terapia génica (vehiculización de plásmidos, RNA, DNA...)²²

También destaca la utilidad de las AuNP en la elaboración de «sistemas transportadores inteligentes» que permiten controlar, en el espacio y en el tiempo, la liberación del compuesto terapéutico asociado, ya que ésta es desencadenada por un estímulo biológico interno (por ejemplo una variación en la concentración de glutatión entre el exterior y el interior de la célula) o por activación de un estímulo externo (por ejemplo luz láser). En presencia de luz láser las AuNP se activan y desprenden calor, siendo muy útiles en el tratamiento selectivo de células tumorales.²²

Debido a sus interesantes propiedades y su potencial interés para diferentes campos de investigación se han desarrollado muchos métodos para la síntesis de nanopartículas de oro a lo largo del último siglo. Éstas se pueden preparar con facilidad, obteniéndose sistemas coloidales monodispersos y estables que pueden presentar tamaños de entre 1 nm y 150 nm y poseen diferentes estructuras: nanoesferas, nanocilindros, nanocubiertas, etc.

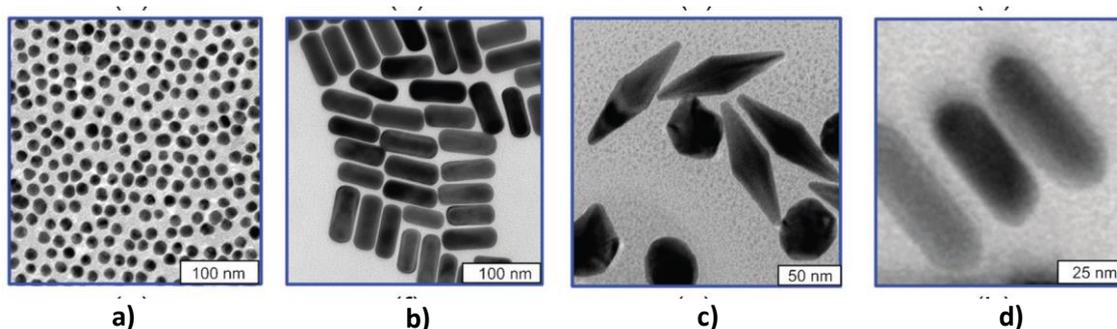


Figura 12: Diferentes formas geométricas de nanopartículas de oro: **a)** Nanoesferas de oro **b)** Nanobarras de oro **c)** Bipirámides de oro **d)** Nanobarras de oro recubiertas con nanoconchas de plata.

El método utilizado en nuestro grupo de investigación para la síntesis de AuNP fue desarrollado por Brust y Schiffrin, en la década de 1990²³. Este método se usa para producir nanopartículas de oro en líquidos orgánicos, que normalmente no son miscibles con agua (como el tolueno). Se trata de la reacción de una solución de ácido cloraurico en agua con bromuro de tetraoctilamonio (TOAB), una solución en tolueno, y borohidruro de sodio como agente reductor. Las nanopartículas obtenidas tienen un tamaño de aproximadamente 6.5 nm. TOAB es a la vez el catalizador de transferencia de fase y el agente estabilizador.

1.8) CONJUGACIÓN DE NANOPARTÍCULAS DE ORO Y POLÍMEROS HELICOIDALES

En los últimos años, han aparecido muchas investigaciones sobre las aplicaciones de las nanopartículas de oro, especialmente en el campo de la biomedicina, ya que sus propiedades ópticas y fototérmicas las hacen ideales para el transporte selectivo de fármacos o el tratamiento de patologías. Dichas investigaciones se han centrado en funcionalizar las nanopartículas con polímeros y moléculas naturales (ADN, proteínas), ya que hablamos de un campo en el que la biocompatibilidad es esencial.²¹

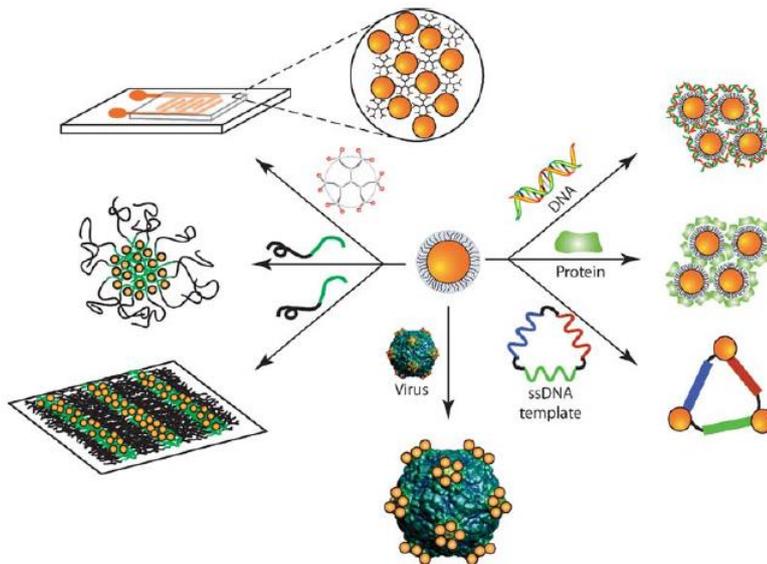


Figura 13: Representación esquemática del ensamblaje de polímeros y AuNP.

A) Ensamblaje de Nanopartículas de Oro y ADN

El ADN constituye una buena plataforma para el ensamblaje de AuNP para formar nanomateriales ordenados ya que su secuencia es programable, tiene capacidad de reconocimiento molecular selectivo y la doble hélice que caracteriza su estructura secundaria es relativamente rígida.

Se usan dos enfoques principales para el ensamblaje del ADN y las nanopartículas. El primero se basa en la hibridación de las cadenas simples de ADN como consecuencia del apareamiento entre bases y el segundo en las interacciones electrostáticas entre las AuNP catiónicas y los grupos fosfatos aniónicos de los nucleótidos de la cadena de ADN.

B) Ensamblaje de Nanopartículas de Oro y Proteínas

La interacción entre las proteínas y nanopartículas protegidas por una monocapa puede utilizarse para generar sistemas altamente organizados de gran variedad estructural. Estas superestructuras combinan las características modificables de las nanopartículas y las diversas propiedades físicas y químicas de las proteínas, con lo que se crea una ruta potencial para la creación de un gran número de materiales. Hay una mayor versatilidad que en el ensamblaje con el ADN debida a la gran variedad funcional de las proteínas.

OBJETIVOS

2. OBJETIVOS

El potencial que presentan las nanopartículas de oro en las diversas aplicaciones mencionadas hace que constituyan un campo de investigación realmente interesante.

Los estudios realizados sobre la conjugación de nanopartículas de oro con polímeros helicoidales se han centrado en polímeros naturales, pero con este trabajo se acomete la creación de una nueva línea de investigación: la creación de un sistema formado por nanopartículas de oro con un recubrimiento polimérico quiral, en nuestro caso basado en polifenilacetilenos.

La síntesis de ese recubrimiento polimérico debe incluir un monómero cuyo grupo funcional permita el anclaje del copolímero a la nanopartícula, mediante un procedimiento de "exchange". Para poder obtener un recubrimiento polimérico mediante este método, es necesario un anclaje previo de la nanopartícula de oro a un grupo amino funcionalizado con un tiol, lo cual es posible debido a la gran afinidad del azufre por las AuNP. Una vez las nanopartículas se han recubierto con la monocapa orgánica se realiza el "exchange" con el copolímero sintetizado con un grupo lábil, para finalmente obtener la nanopartícula de oro con el recubrimiento polimérico quiral.

Para asegurarnos de que la síntesis se realiza con éxito será necesario caracterizar los monómeros, y después los copolímeros obtenidos.

Una vez que las nanopartículas de oro se han anclado al recubrimiento polimérico quiral se realizarán estudios para constatar que el copolímero no pierde sus propiedades características (amplificación de quiralidad), por lo que se conjugará el sistema con cationes metálicos monovalentes y divalentes y se compararán los resultados obtenidos con los del copolímero libre, es decir, cuando éste no actúa como recubrimiento.

PLANTEAMIENTO

3. PLANTEAMIENTO

Para alcanzar nuestro objetivo se llevará a cabo la síntesis de nanopartículas de oro con una cubierta quiral basada en polifenilacetilenos altamente dinámicos. Para ello, usaremos diferentes copolímeros que contengan un éster activo en su estructura, el cual permitirá el anclaje a las AuNP. Una vez sintetizada la nanopartícula metálica con la cubierta quiral, someteremos el material a diversos estímulos externos a la espera de una respuesta en forma de amplificación de quiralidad.

En primer lugar se llevarán a cabo copolimerizaciones con los monómeros en distintas proporciones, utilizando como catalizador $[\text{Rh}(\text{nbd})\text{Cl}]_2$.

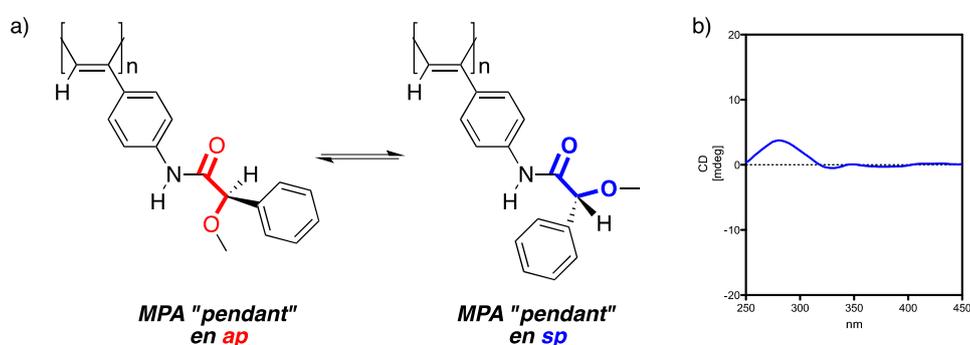


Figura 14: a) Polímero helicoidal dinámico aunque racémico desde el punto de vista macroscópico b) Espectro de CD del Poli-(*R*)-MPA

El Poli-(*R*)-MPA se caracteriza por presentar un equilibrio conformacional entre dos conforméromos mayoritarios –el *ap*, donde el carbonilo y el OMe del MPA se disponen en antiperiplanar, y la conformación *sp* donde el carbonilo y el OMe se encuentran en disposición sinperiplanar– dando como resultado un copolímero con propiedades ópticas nulas (CD nulo).

Teniendo en cuenta este dato, el (*R*)-MPA (M1) puede actuar como sensor para diversos estímulos, como los cationes metálicos, que hacen que se fije una hélice con un giro determinado, ya que se coordinan al “pendant”, estabilizando una determinada conformación.

Los cationes divalentes se coordinan al carbonilo y al metoxilo fijando la conformación *sp*. Dicha conformación, *sp*, es la responsable de la generación de una hélice predominante con efecto Cotton positivo en la región vinílica. En el caso de la adición del ión metálico monovalente, la conformación fijada en el “pendant” es *ap*, responsable de la generación mayoritaria de una hélice con efecto Cotton negativo en la región vinílica.

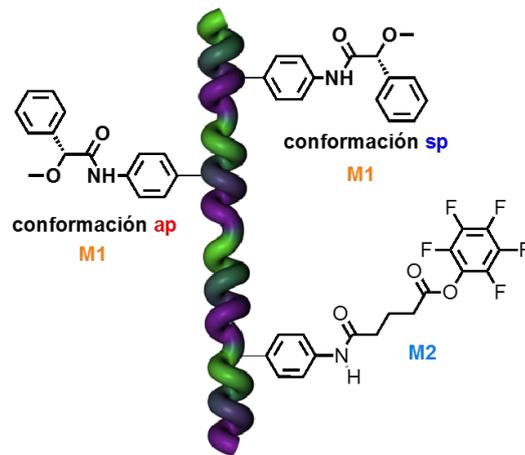


Figura 15: Colímero helicoidal dinámico y racémico.

El monómero perfluorofenil 5-((4-etinilfenil)amino)-5-oxopentanoato (M2) se caracteriza por presentar en su estructura un éster activo que posee un grupo benceno completamente sustituido con átomos de flúor. Por otra parte, las nanopartículas de oro se recubren con una monocapa orgánica durante su proceso de síntesis que consiste en moléculas de cisteamina (una amina funcionalizada con un grupo tiol). Éstas cumplen una doble función: evitar la aglomeración de las nanopartículas y actuar como sitio de anclaje para el recubrimiento polimérico quiral.

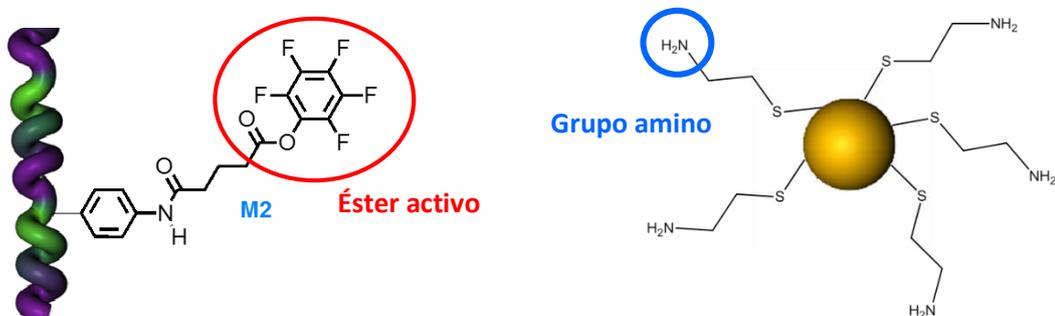


Figura 16: Grupos funcionales del copolímero y del recubrimiento de las AuNP que intervienen en la reacción que provoca el anclaje del copolímero a la nanopartícula de oro.

El azufre de la cisteamina tiene una gran apetencia por los átomos de oro, mientras que el grupo amino ataca al carbonilo del éster activo de M2, formándose un enlace amida que permite el ensamblaje de las nanopartículas de oro con el recubrimiento polimérico quiral.

Dicho proceso de ensamblaje tiene lugar mediante la simple adición de la disolución del copolímero correspondiente sobre una suspensión de nanopartículas de oro.

De aquí en adelante, para referirnos a los copolímeros, usaremos la notación Poli(**1**_r-co-**2**_(1-r)), en la que los números 1 y 2 representan a los monómeros M1 y M2 respectivamente, y r es un número comprendido entre 0 y 100 que representa el porcentaje de cada monómero en el copolímero.

Finalmente, se procederá con la realización de cromatogramas mediante GPC para detectar la presencia de las nanopartículas con el recubrimiento polimérico y de experimentos de dicroísmo circular en presencia de los iones metálicos Li⁺ y Ba²⁺ para observar si los iones metálicos amplifican un determinado sentido de giro helicoidal y si la presencia de las AuNP interfiere de algún modo con el efecto de amplificación de quiralidad. A mayores, usaremos diferentes técnicas (UV-Vis, IR, RMN...) que nos permitirán realizar la caracterización estructural de forma adecuada.

DISCUSIÓN DE RESULTADOS

4. DISCUSIÓN DE RESULTADOS

4.1) ESTUDIOS DE CROMATOGRAFÍA DE EXCLUSIÓN POR TAMAÑOS (GPC/SEC)

Para confirmar la presencia de las nanopartículas de oro con el recubrimiento polimérico quiral se prepara una disolución de Poli(1_{97} - CO - 2_3) 0.5 mg/mL en THF y se añade a una suspensión de nanopartículas de oro con recubrimiento amino funcionalizado de 0.5 mg/mL en THF.

Se realiza un primer cromatograma 1 hora después de la conjugación de las nanopartículas con el recubrimiento polimérico y en él se observan dos picos; uno correspondiente a las nanopartículas de oro, con un tiempo de retención de 34 minutos y otro correspondiente al copolímero, con un tiempo de retención de 29 minutos.

24 horas después se realiza un segundo cromatograma en el que se observa la aparición de un tercer pico a un tiempo de retención de 19 minutos, que se hace más intenso a medida que las nanopartículas de oro se recubren con el copolímero, mientras que la intensidad de los picos correspondientes al copolímero y las nanopartículas de oro disminuyen. La obtención de un método optimizado para observar este fenómeno mediante SEC ha sido complicada.

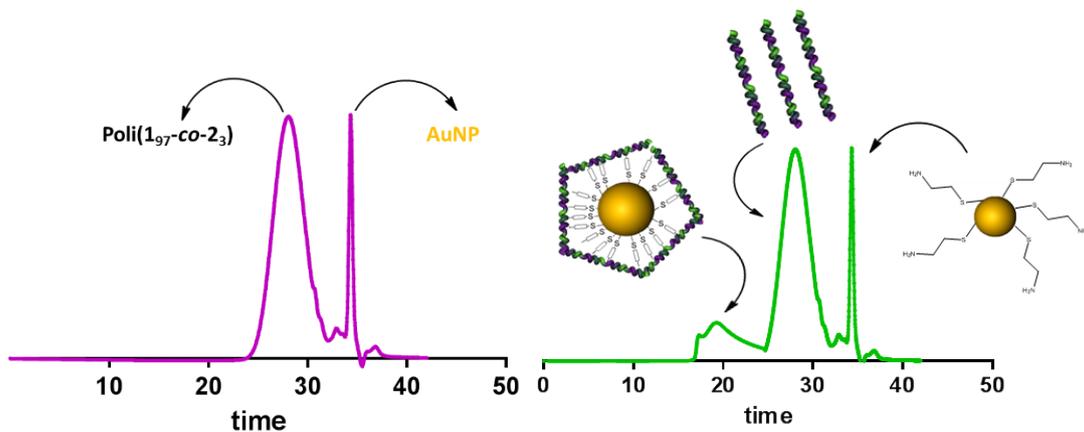


Figura 17: a) Cromatograma de Poli(1_{97} - CO - 2_3)@AuNP después de 1h **b)** Cromatograma de Poli(1_{97} - CO - 2_3)@AuNP pasadas 24h.

4.2) ESTUDIOS DE DICROÍSMO CIRCULAR Y ULTRAVIOLETA

Para determinar la existencia de un sentido helicoidal predominante en nuestro copolímero se realizaron estudios de CD y UV para los copolímeros sintetizados y para las nanopartículas de oro con el recubrimiento polimérico.

En primer lugar, se realizaron estudios de CD en disoluciones de Poli(1_r - co - $2_{(1-r)}$) en $CHCl_3$ de 0.3 mg/mL de concentración. Se adicionó una disolución de Li^+ 10 mg/mL en THF para obtener una proporción copolímero/ión metálico 1.0/0.5 (mol/mol), ya que en estudios previos se comprobó que la respuesta era máxima.

Los espectros de CD de la serie Poli(1_r - co - $2_{(1-r)}$) en presencia de Li^+ (THF) indican que la conjugación del copolímero con el catión metálico monovalente provoca la aparición del efecto Cotton negativo en la región vinílica (380 nm), indicando la presencia de un sentido helicoidal dominante. La conformación fijada del “*pendant*” es la *ap*. (Figura 18)

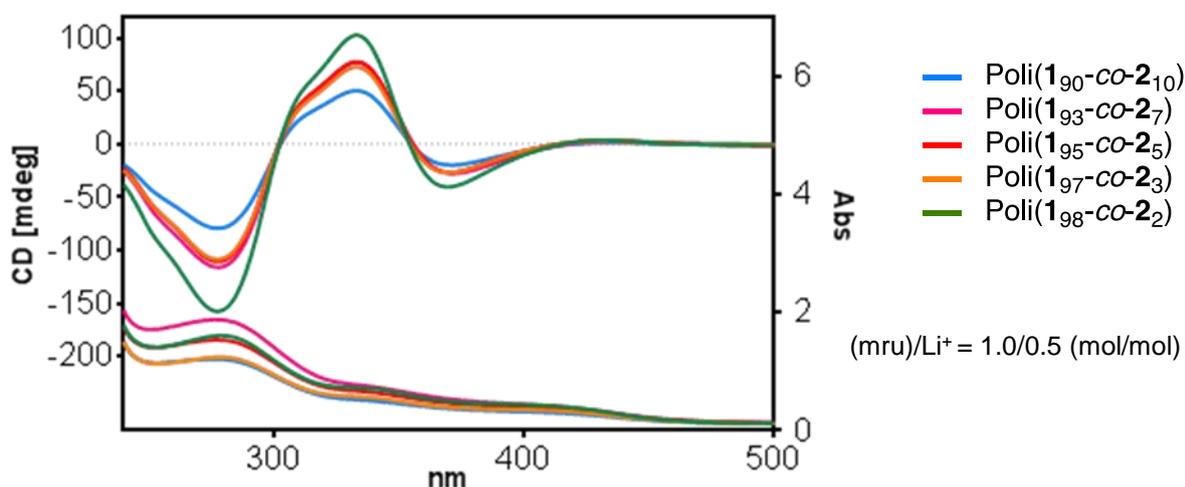


Figura 18: Espectros de CD para Poli(1_r - co - $2_{(1-r)}$) en presencia de Li^+

Estudios similares fueron realizados para la serie Poli(1_r - co - $2_{(1-r)}$) en $CHCl_3$ de 0.3 mg/mL de concentración con la adición de una disolución el catión divalente de Ba^{2+} 10 mg/mL en THF hasta obtener una proporción copolímero/ión metálico 1.0/0.5 (mol/mol).

Los estudios de CD de la serie Poli(1_r - co - $2_{(1-r)}$) en presencia de Ba^{2+} (THF) muestran la aparición de un fuerte efecto Cotton positivo en la región vinílica (380 nm), indicando la presencia de un sentido helicoidal dominante y opuesto al observado en los estudios de CD del copolímero con Li^+ (THF). De estos resultados se deduce que el Ba^{2+} se coordina al “*pendant*” a través de la conformación *sp*. (Figura 19)

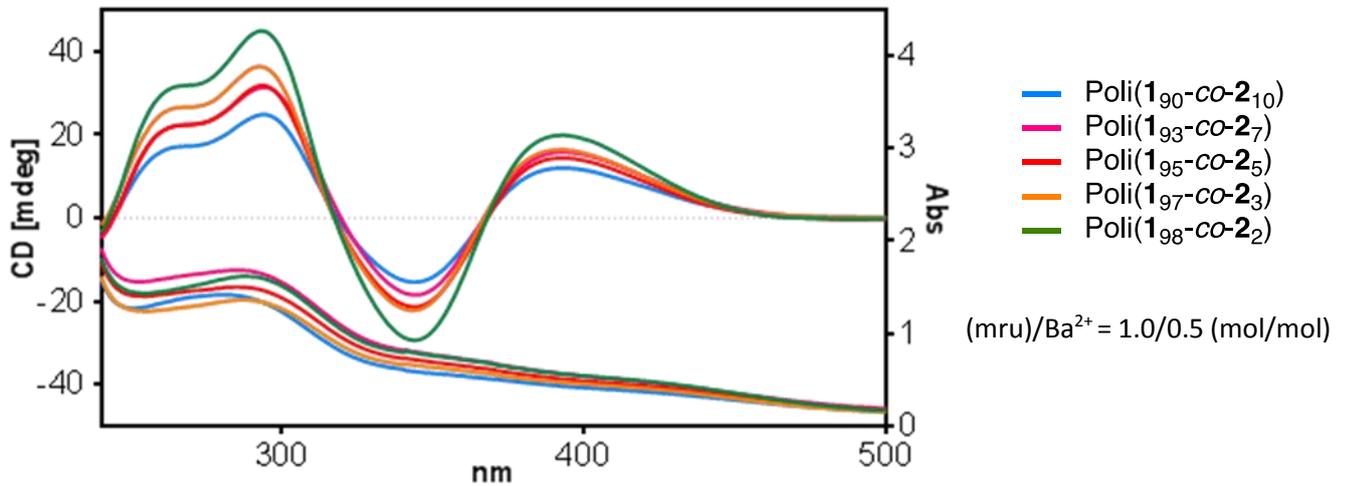
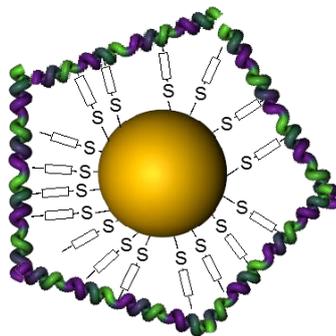


Figura 19: Espectros de CD para Poli(1_r -co- $2_{(1-r)}$) en presencia de Ba^{2+}

Tras haber comprobado que la presencia del ión metálico monovalente Li^+ provoca la aparición de un sentido helicoidal dominante levógiro, mientras que la adición de una disolución del ión metálico divalente de Ba^{2+} induce un sentido helicoidal dextrógiro, se procedió a comprobar si el efecto de amplificación de helicidad se mantiene cuando el copolímero es utilizado como recubrimiento quiral para las nanopartículas de oro.

Para ello, las disoluciones de Poli(1_r -co- $2_{(1-r)}$) en $CHCl_3$ de 0.3 mg/mL se adicionaron a una suspensión de AuNP en $CHCl_3$ con recubrimiento de cisteamina de concentración 0.3 mg/mL y se mantuvo la agitación magnética durante 48 h, para asegurarnos de que las AuNP presentan el recubrimiento polimérico.

Los estudios de CD muestran que la serie Poli(1_r -co- $2_{(1-r)}$) presenta un CD nulo cuando actúa como recubrimiento para las nanopartículas, de lo que se deduce que éstas no inducen quiralidad, ya que la hélice sigue siendo racémica (existe equilibrio entre la conformación *ap* y *sp* en los “pendants” del monómero (*R*)-MPA del copolímero sintetizado).



Nanopartícula con recubrimiento racémico

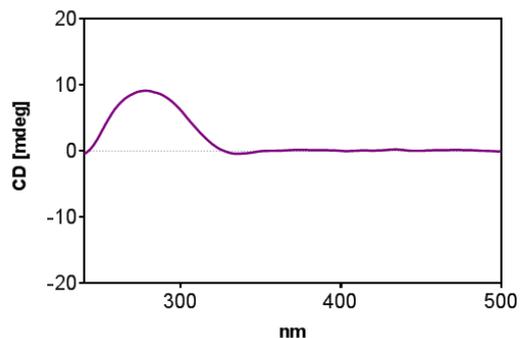


Figura 20: a) Esquema conceptual de la nanopartícula de oro con el recubrimiento de copolímero racémico b) Espectro de CD nulo para Poli(1_{95} -co- 2_5)@AuNP.

Tras haber comprobado que las AuNP no inducen quiralidad en el copolímero en ninguno de los casos se realizaron estudios de CD para las AuNP con recubrimiento polimérico tras la adición de disoluciones de $\text{Li}^+(\text{THF})$ y $\text{Ba}^{2+}(\text{THF})$.

En primer lugar se procedió a la adición del ión metálico Li^+ a $\text{Poli}(\mathbf{1}_{95}\text{-CO-}\mathbf{2}_5)\text{@AuNP}$ para obtener una proporción AuNP-copolímero/ión metálico 1.0/0.5 (mol/mol) y el espectro obtenido fue contrastado con el del copolímero no conjugado con AuNP en presencia de Li^+ . En este caso se observó un efecto Cotton negativo más débil que en el copolímero $\text{Poli}(\mathbf{1}_{95}\text{-CO-}\mathbf{2}_5)$ en presencia de Li^+ . Se comparan los valores de la señal de CD en la zona vinílica (380 nm).

Considerando que el exceso de helicidad del copolímero en presencia de Li^+ es de un 100 %, la presencia de las AuNP hace que la señal del CD disminuya hasta un 56 % con respecto a la señal original, es decir, hay una disminución en el efecto de amplificación de la quiralidad, pero éste no desaparece del todo, como se puede observar en la Figura 21.

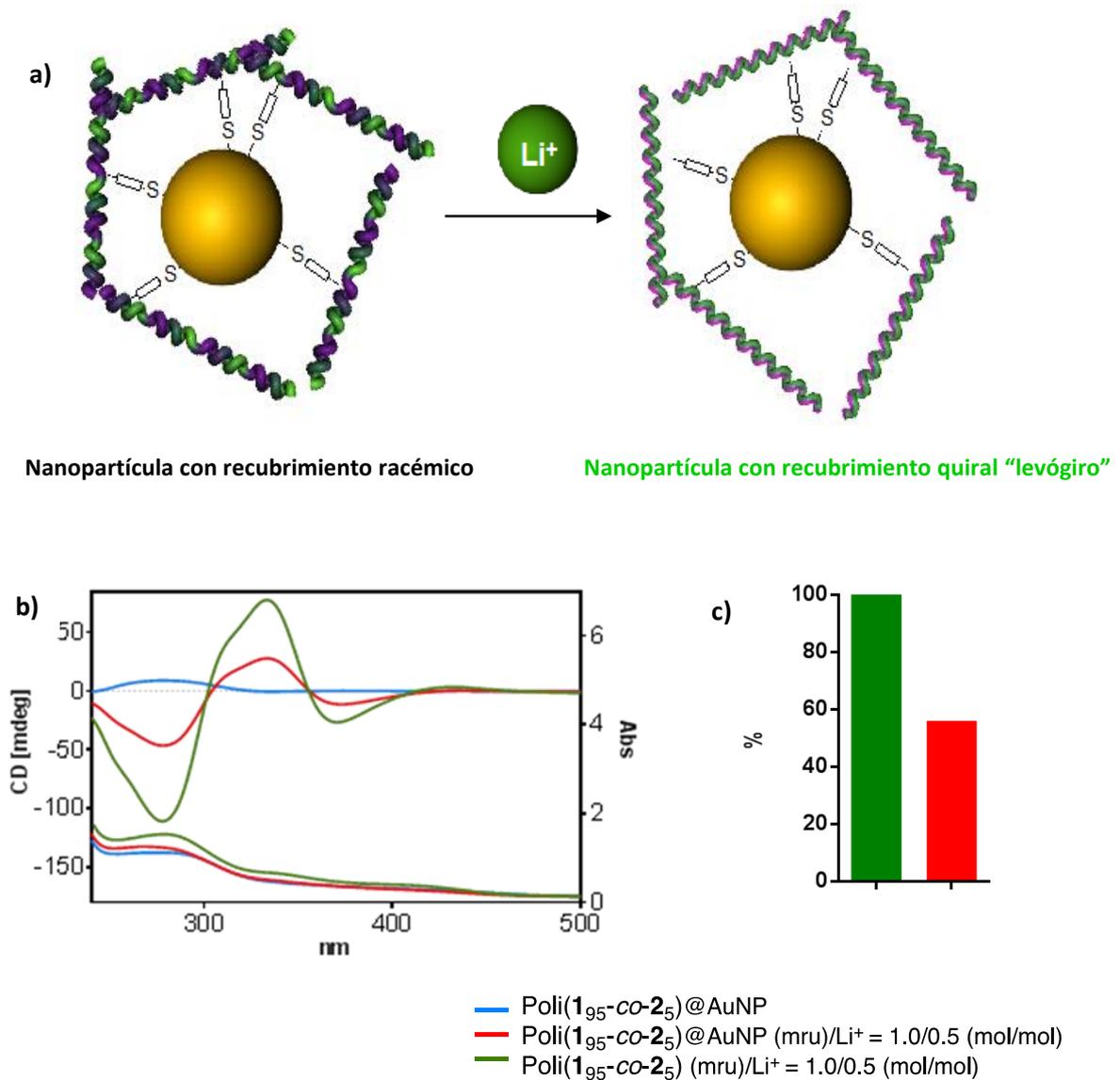


Figura 21: a) Esquema conceptual de la amplificación de la quiralidad en nanopartículas de oro con recubrimiento polimérico b) Espectros de CD para Poli(1₉₅-CO-2₅) en presencia de Li⁺ con y sin AuNP c) Representación gráfica de la disminución del efecto de amplificación de la quiralidad en el copolímero por la presencia de AuNP.

Una sistemática similar fue utilizada para los estudios con el catión metálico divalente Ba^{2+} . Para ello, a una disolución de Poli(1_{95} - co - 2_5)@AuNP se le adicionó Ba^{2+} para obtener una proporción AuNP-copolímero/ión metálico 1.0/0.5 (mol/mol) y el espectro obtenido fue contrastado con el del copolímero no conjugado con AuNP en presencia de Ba^{2+} . En este caso se observó un efecto Cotton negativo más débil que en el copolímero Poli(1_{95} - co - 2_5) en presencia de Ba^{2+} . Se comparan los valores de la señal de CD en la zona vinílica (380 nm).

Considerando que el exceso de helicidad del copolímero en presencia de Ba^{2+} es de un 100 % la presencia de las AuNP hace que la señal del CD disminuya hasta un 72% con respecto a la señal original, por lo que también se observa una disminución en el efecto de amplificación de quiralidad, que no llega a desaparecer, como se puede ver en la Figura 22.

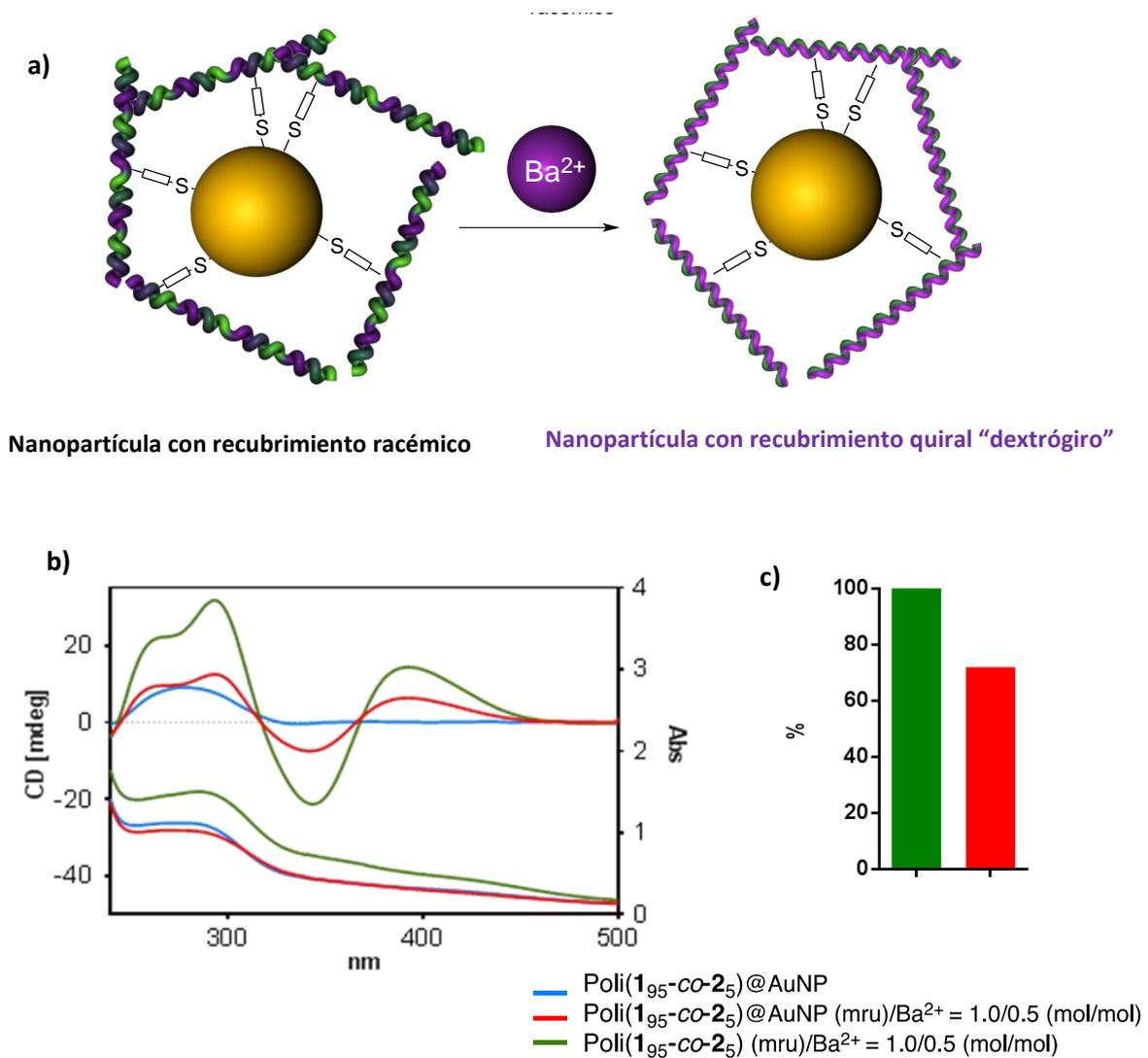


Figura 22: a) Esquema conceptual de la amplificación de la quiralidad en nanopartículas de oro con recubrimiento polimérico b) Espectros de CD para Poli(1_{95} - co - 2_5) en presencia de Ba^{2+} con y sin AuNP c) Representación gráfica de la disminución del efecto de amplificación de quiralidad por la presencia de AuNP.

4.3) ESTUDIOS DE AGREGACIÓN. MEDIDAS DE DISPERSIÓN DINÁMICA DE LA LUZ (DLS), SEM Y TEM

Mediante la técnica de dispersión dinámica de la luz (DLS) podemos determinar la distribución del tamaño de partícula y también el índice de polidispersión, que indica si las nanoestructuras obtenidas presentan un tamaño más o menos definido, o por el contrario, se forman agregados que no siguen ningún patrón. Esta técnica se usa con pequeñas partículas en suspensión, o con polímeros en disolución.

Estudios de SEM, TEM y DLS nos confirmaron la formación de nanopartículas de oro con recubrimiento polimérico.

Para llevar a cabo los estudios de DLS se preparó una disolución de Poli(1₉₅-co-2₅) de 0.3 mg/mL en THF. A continuación la disolución de copolímero fue añadida a una suspensión de AuNP con recubrimiento amino funcionalizado de 0.3 mg/mL de THF y la mezcla se mantuvo bajo agitación 48 h para garantizar que las AuNP posean el recubrimiento polimérico quiral.

Las medidas de DLS obtenidas indican la formación de nanoestructuras de unos 82 nm.

Habiendo obtenido este resultado, se decide llevar a cabo un estudio de nuestra muestra de Poli(1₉₅-co-2₅)@AuNP mediante microscopía de barrido, para lo cual es necesario diluirla hasta una concentración de 0.01 mg/mL en THF. En las imágenes obtenidas mediante esta técnica se observa claramente la formación de estructuras de tipo nanoesfera.

Así mismo, se prepara otra muestra de Poli(1₉₅-co-2₅)@AuNP de concentración 0.01 mg/mL en THF y se hace un análisis mediante microscopía de transmisión. Las imágenes obtenidas nos confirman la formación de nanopartículas de oro con recubrimiento polimérico, las cuales adoptan una estructura de tipo nanoesfera.

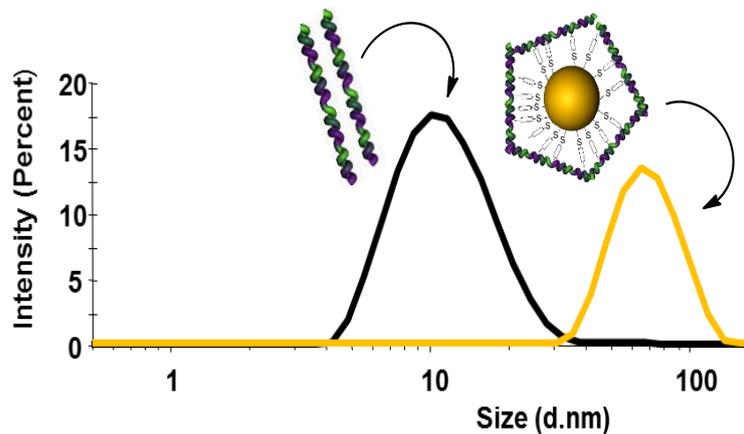


Figura 23: Medidas de DLS para Poli(1₉₅-co-2₅) (Zave=11 nm PDI=0.384) y para Poli(1₉₅-co-2₅)@AuNP (Zave=82 nm PDI=0.421) en THF.

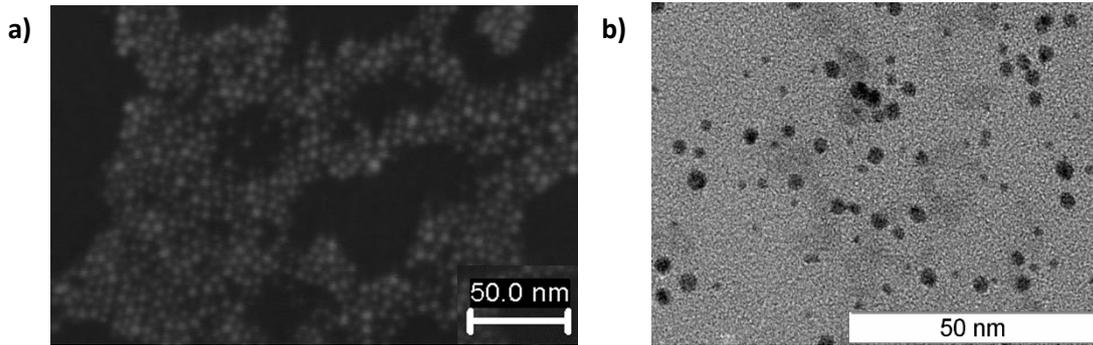


Figura 24: **a)** Imagen de SEM de las nanoesferas formadas por Poli(1₉₅-co-2₅)@AuNP en TFH (Escala: 50 nm) **b)** Imagen de TEM de las nanoesferas formadas por Poli(1₉₅-co-2₅)@AuNP en TFH (Escala: 50 nm)

Otros estudios llevados a cabo por nuestro grupo de investigación demostraron la formación de estructuras de tipo nanoesfera para el Poli-(R)-MPA en presencia del catión Ba²⁺, por lo que se decidió comprobar lo que sucede al conjugar nuestra nanopartícula de oro con recubrimiento polimérico con una sal de Ba²⁺.

Para llevar a cabo los estudios de DLS se preparó una disolución de Poli(1₉₅-co-2₅) de 0.3 mg/mL en THF. A continuación se añadió la disolución de copolímero a una suspensión de AuNP con recubrimiento amino funcionalizado de 0.3 mg/mL de THF y se dejó bajo agitación 48 h para garantizar que las AuNP posean el recubrimiento polimérico quiral.

Posteriormente se añadió una disolución de Ba²⁺ en THF de 10 mg/mL para obtener una proporción AuNP-copolímero/ión metálico 1.0/0.5 (mol/mol).

Las medidas de DLS obtenidas indican la formación de nanoestructuras de unos 90 nm.

Habiendo obtenido este resultado, se decide llevar a cabo un estudio de nuestra muestra de Poli(1₉₅-co-2₅)@AuNP (mru)/Ba²⁺ = 1.0/0.5 (mol/mol) mediante microscopía de barrido, para lo cual es necesario diluirla hasta una concentración de 0.01 mg/mL en THF. En las imágenes obtenidas mediante esta técnica se aprecia claramente la formación de estructuras de tipo nanoesfera.

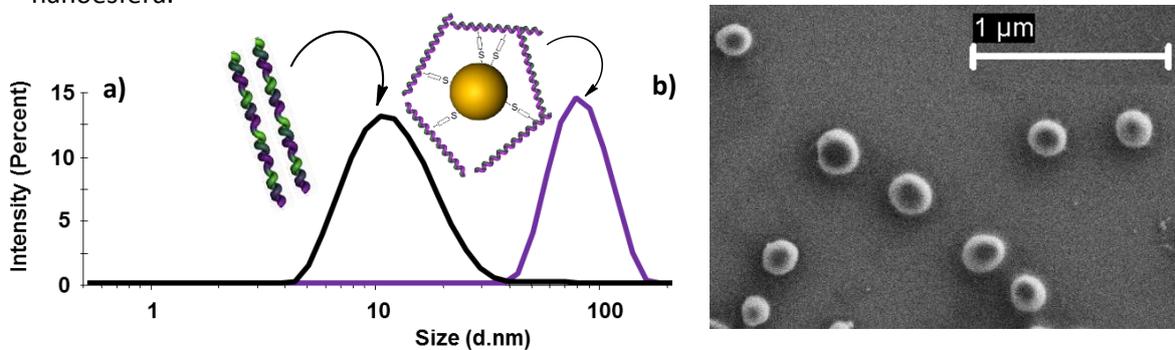


Figura 25: **a)** Medidas de DLS para Poli(1₉₅-co-2₅) (Zave=11 nm PDI=0.384) y para Poli(1₉₅-co-2₅)@AuNP (mru)/Ba²⁺ = 1.0/0.5 (mol/mol) (Zave=90 nm PDI=0.437) en THF **b)** Imagen de SEM de las nanoesferas formadas por Poli(1₉₅-co-2₅)@AuNP (mru)/Ba²⁺ = 1.0/0.5 (mol/mol) en TFH (Escala: 1μm)

CONCLUSIONS

5. CONCLUSIONS

Helical dynamic polymers based on polyphenylacetylenes may suffer chiral amplification or helix inversion phenomena in response to the addition of metal ions due to conformational changes in pendants.

The possibility of modifying the helical content of a polyphenylacetylene through the addition of metal ions and the ability of those to act as crosslinking agent of polymeric chains makes possible the generation of nanostructures. It has been proved that we can obtain nanospheres, which could act as sensors, encapsulating agents, etc.

Performed studies show that creating a system integrated by gold nanoparticles and a synthetic polymer is in fact possible. The properties of this laboratory-synthesized compounds are more adjustable than those from biopolymers (DNA, proteins...) so a much more versatile system can be obtained.

It has been proved by the CD experiments that the conjugation of gold nanoparticles and our copolymer does not cause the loss of its initial properties (chiral amplification, helix inversion) so the ability of the copolymer to act as a sensor for different stimuli remains unchanged, although it is shown that the intensity of the CD signal decreases.

Nevertheless, both, copolymer and gold nanoparticles, are able to maintain the properties that makes them really useful (chiral-optical sensors, drug-delivery systems...) even when they form an AuNP-copolymer complex.

We are trying to introduce a new research line (AuNP with a synthetic polymer coating) which offers a lot of new possibilities and a larger ability to control the properties that we desire in our system (biodegradability, mechanical properties...)

BIBLIOGRAFÍA

6. BIBLIOGRAFÍA

- [1] C.S. Hanes, *New Phytol.* **1937**, *36*, 101, 189.
- [2] K. Freudenberg, E. Schaaf, G. Dumpert, T. Ploetz, *Naturwissenschaften.* **1939**, *27*, 850.
- [3] L. Pauling, R. B. Corey, H. R. Branson. *Proc. Natl. Acad. Sci.U.S.A.* **1951**, *378*, 205.
- [4] J. D. Watson, F. H. C. Crick. *Nature.* **1953**, *171*, 737.
- [5] G. Natta, P. Pino, P. Corradin, F. Danusso, E. Mantica, E. Nazzanti, G. Moraglio, *J. Am. Chem. Soc.* **1955**, *109*, 6102.
- [6] P. Pino, G. P. Lorenzi. *J. Am. Chem. Soc.* **1960**, *82*, 4745.
- [7] Y.S. Okamoto, K. Suzuki, K. Ohta, K. Hatada, H. Auki. *J. Am. Chem. Soc.* **1988**, *110*, 4063.
- [8] M. M. Green, C. Andreola, B. Munoz, M. P. Reidy, K. Zero. *J. Am. Chem. Soc.* **1988**, *110*, 4063.
- [9] E. Yashima, K. Maeda, H. Iida, Y. Furusho, K. Nagai, *Chem. Rev.*, **2009**, *109*, 6102.
- [10] K. Maeda, E. Yashima, *Top. Curr. Chem.*, **2006**, *265*, 47.
- [11] K. Maeda, K. Morino, Y. Okamoto, T. Sato and E. Yashima, *J. Am. Chem. Soc.*, **2004**, *126*, 4329
- [12] F. Freire, J. M. Seco, E. Quiñoá, R. Riguera, *Angew. Chem. Int. Ed.*, **2011**, *50*, 11692
- [13] S. Leiras, F. Freire, J. M. Seco, E. Quiñoá, R. Riguera, *Chem.Science*, **2013**, *4*, 2735-2743
- [14] I. Louzao, J. M. Seco, E. Quiñoá, R. Riguera, *Angew. Chem. Int. Ed.*, **2010**, *49*, 1430.
- [15] K. Nakanishi, N. Berona, *Circular Dichroism: Principles and Applications*; ed por N. Berona, K. Nakanishi, W. R Woody, **2000**, *WileyVCH*, 2ª ed, *Cap 13*, pp 361.
- [16] V. Percec, J.G. Rudick, M. Perteca, M. Wagner, M. Obata, C. M. Mitchell, W.D. Cho. V. S. K. Balagurusamy, P. A. Heiney, *J. Am. Chem. Soc.* **2005**, *127*, 15257.
- [17] K. Okoshi, S. Sakurai, S. Ohsawa, J. Kuniaki, E. Yashima, *Angew. Chem.*, Int. Ed. **2006**, *45*, 8173.
- [18] V. Percec, M. Peterca, J. G. Rudick, E. Aqad, M. R. Imam, P. A. Heiney, *Chem. Eur. J.* **2007**, *13*, 9572.
- [19] V. Percec, J.G. Rudick, M. Perteca, M. Wagner, M. Obata, C. M. Mitchell, W.D. Cho. V. S. K. Balagurusamy, P. A. Heiney, *J. Am. Chem. Soc.* **2005**, *127*, 15257.
- [20] L. Lui, T. Namikoshi, Y. Zang, T. Aoki, S. Hadano, Y. Abe, I. Wasuzu, T. Tsutsuba, M. Teraguchi and T. Kaneko, *J. Am. Chem. Soc.* **2013**, *135*, 602.
- [21] Y. Ofir, B. Samanta, V. M. Rotello, *Chem. Soc. Rev*, **2008**, *37*, 1814–1825
- [22] S. Al-Qadi, C. Remuñán-López C., *Monografías de la Real Academia Nacional de Farmacia*, Monografía XXVIII. Nanotecnología farmacéutica, **2009**, 223-248.
- [23] M. Brust, M. Walker, D. Bethell, D.J. Schiffrin, R. Whyman, *J. Chem. Soc., Chem. Commun.*, **1994**, 801.

EXPERIMENTAL

7. EXPERIMENTAL

7.1) GENERAL

Todas las reacciones llevadas a cabo se realizaron bajo atmosfera inerte y utilizando disolventes de alta calidad, secados mediante destilación sobre un agente desecante adecuado, en atmosfera inerte, inmediatamente antes de su uso. Como agente desecante se utilizó CaH_2 para CH_2Cl_2 .

Los espectros de RMN de ^1H y ^{13}C se realizaron en espectrómetros Varian Mercury 300; utilizando como disolvente CDCl_3 y DMSO para el ácido precursor de M2. Los desplazamientos químicos (ppm) se toman con referencia a la señal del TMS (0 ppm). Para el DMSO tomamos como referencia la señal del propio disolvente.

Los espectros de IR se realizaron en un Perkin-Elmer. Se realizó la medida sobre los copolímeros en estado sólido.

Los estudios de GPC/SEC se llevaron a cabo en un cromatógrafo HPLC Alliance de Waters con disoluciones de 0.2 mg/mL de copolímero en THF.

- *Estudios de Dicroísmo Circular (CD) y Ultravioleta (UV).*

Los espectros de Dicroísmo Circular (CD) se registraron en un espectropolarímetro Jasco 720 (240-500 nm). Las muestras utilizadas para estos experimentos eran de una concentración 0.3 mg/mL en CHCl_3 .

Los espectros de UV se registraron en un espectrofotómetro Jasco V-630 con un intervalo de longitud de onda entre 240 y 500 nm. Se prepararon muestras de 0.3 mg/mL en CHCl_3 .

- *Estudios de Dispersión Dinámica de la Luz (DLS).*

Los estudios de DLS se registraron en un Malvern Nano ZS (Malvern Instruments). Las muestras de Poli($\mathbf{1}_r$ -co- $\mathbf{2}_{(1-r)}$)@AuNP en THF fueron medidas con una concentración final de 0.3 mg/mL y también en presencia de 0.5 equiv de Ba^{2+} .

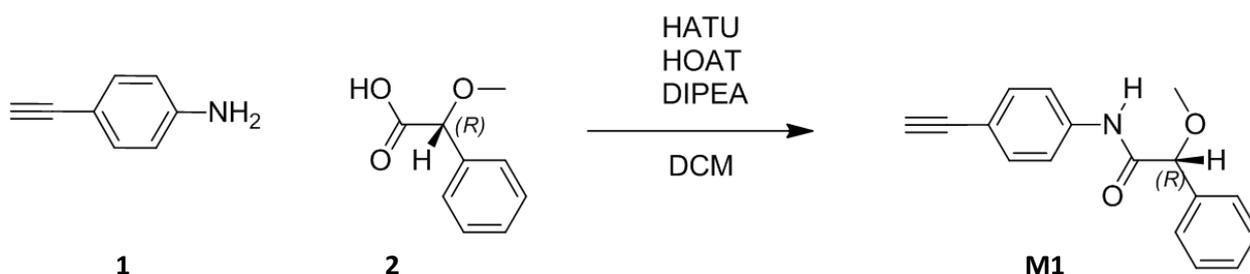
- *Estudios de Microscopía de Barrido y Transmisión.*

Las mediciones de FESEM fueron realizadas en un Microscopio Electrónico de Barrido de Emisión de Campo FESEM ULTRA Plus de la marca Zeiss (CACTUS Santiago). Una gota (10 μL) de una disolución de Poli($\mathbf{1}_r$ -co- $\mathbf{2}_{(1-r)}$)@AuNP en CHCl_3 (0.01 mg/mL) fue depositada en un chip de oblea de silicio y se dejó secar a temperatura ambiente.

Las imágenes TEM fueron realizadas en un Microscopio Electrónico de Transmisión (CACTUS Universidad de Lugo). Una gota (10 μ L) de una disolución de Poli(**1**-co-**2**_(1-r))@AuNP en CHCl₃ (0.01 mg/mL) fue depositada en una rejilla de carbono y se dejó secar a temperatura ambiente.

7.2) SÍNTESIS Y CARACTERIZACIÓN

1) Síntesis (*R*)-N-(4-etilfenil)-2-metoxi-2-fenilacetamida (**M1**)



A una disolución de (*R*)-ácido α -metoxifenilacético (**2**) (0.424 g, 2.553 mmol) en diclorometano (25.0 mL) se le añadió HOAt (0.347 g, 2.553 mmol), HATU (0.970 g, 2.553 mmol) y DIPEA (0.330 g, 2.553 mmol). A continuación se le añadió 4-etilanilina (**1**) (0.250 g, 2.127 mmol). La mezcla se dejó en agitación, a temperatura ambiente y en atmósfera inerte durante 4 horas. Una vez transcurrido este tiempo, la mezcla de reacción se elaboró con HCl 1M (3 x 30 mL), NaHCO₃ saturada (3 x 30 mL) y NaCl saturada (3 x 30 mL). La fase orgánica se secó con Na₂SO₄ anhidro y se filtró. Posteriormente se concentró y se purificó mediante cromatografía en columna de gel de sílice eluyendo con hexano/acetato de etilo (70:30) obteniéndose el monómero **M1** puro con un rendimiento del 73,4% (0.258 g).

¹H RMN (350 MHz, CDCl₃) δ (ppm): 3.06 (s, 1H), 3.46 (s, 3H), 4.82 (s, 1H), 7.24-7.53 (m, 9H), 8.63 (s, 1H).

¹³C RMN (350 MHz, CDCl₃) δ (ppm): 171.92, 132.93, 128.70, 127.05, 119.25, 83.80, 77.42, 77.00, 76.79, 76.58, 57.34.

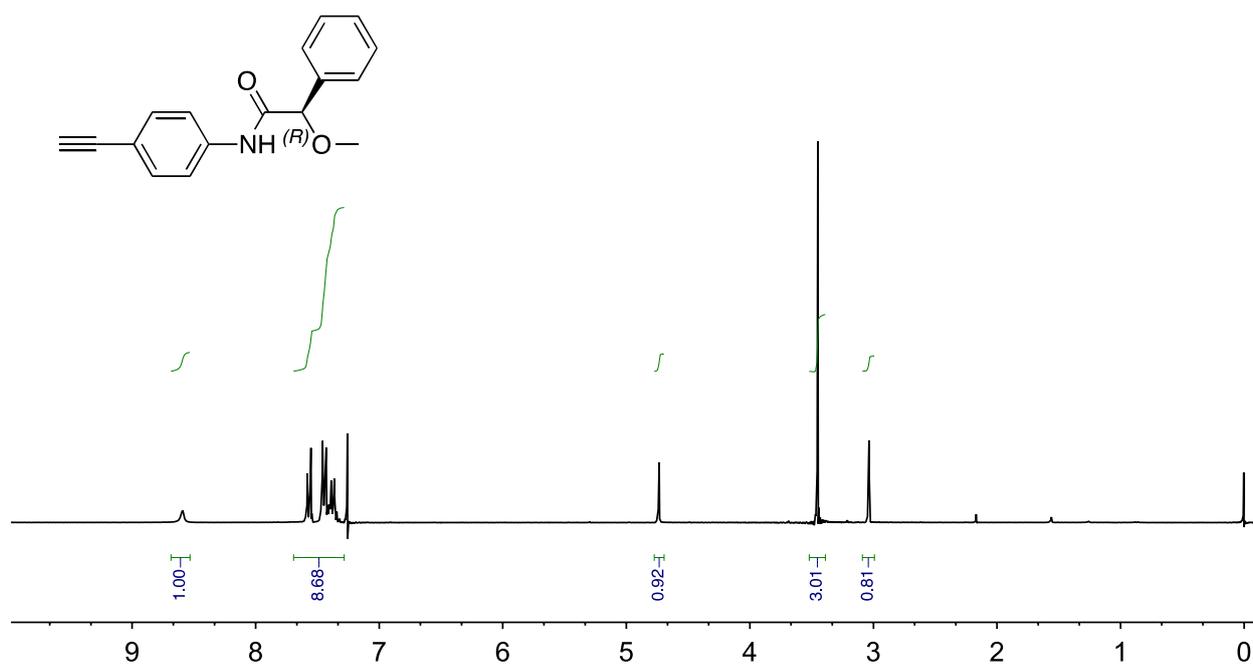


Figura 26: Espectro de $^1\text{H-RMN}$ de **M1** (350 MHz, CDCl_3)

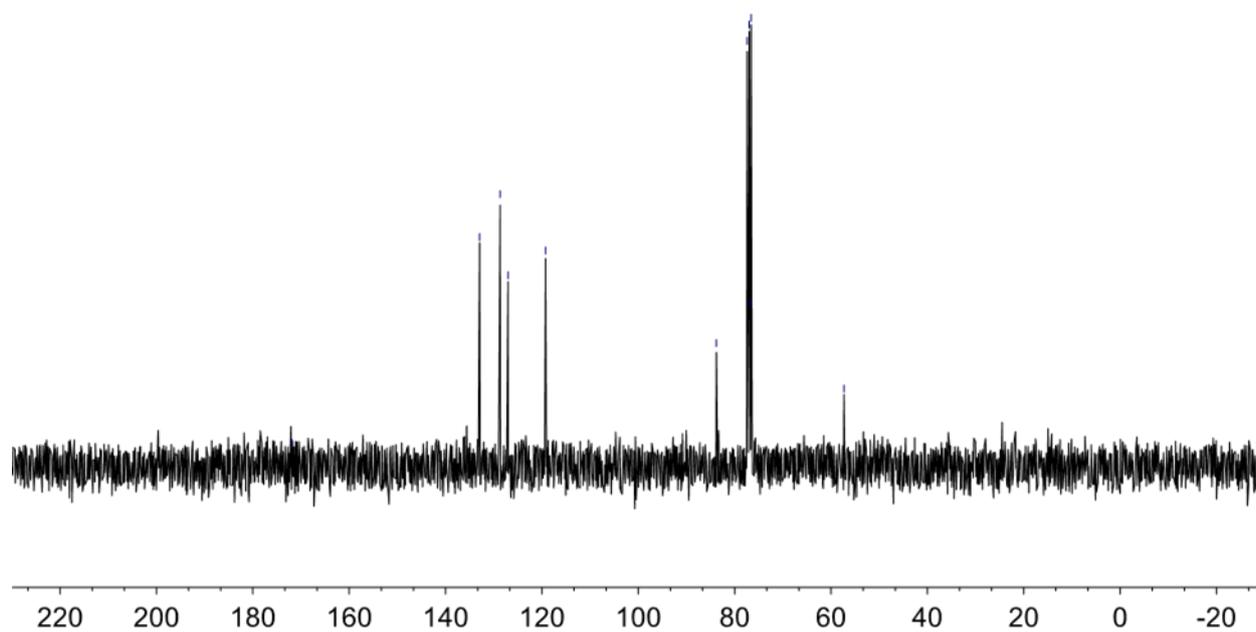
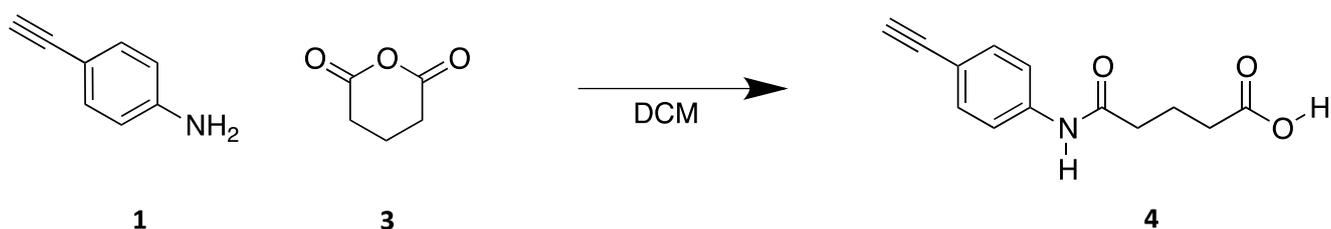


Figura 27: Espectro de $^{13}\text{C-RMN}$ de **M1** (350 MHz, CDCl_3)

2) Síntesis del perfluorofenil 5-((4-etinilfenil)amino)-5-oxopentanoato (M2)

La síntesis se lleva a cabo en dos pasos. En la primera etapa se sintetiza un ácido que actúa como precursor para la síntesis de M2 en la segunda etapa mediante una reacción de esterificación.

a) Síntesis del ácido 5-((4-etinilfenil)amino)-5-oxopentanoico



A una disolución de 4-etilanilina (**1**) (0.250 g, 2.128 mmol) en diclorometano (25.0 mL) se le añadió anhídrido glutárico (**3**) (0.243 g, 2.128 mmol) La mezcla se dejó bajo agitación, a temperatura ambiente y en atmósfera inerte toda la noche.

El ácido (**4**) obtenido se concentra y purifica mediante cromatografía en columna en gel de sílice usando como eluyente metanol/diclorometano (90:10). Tras esta etapa, el rendimiento obtenido es de un 58% (0.285 g).

^1H RMN (350 MHz, DMSO) δ (ppm): 2.32 (s, 1H), 2.80 (m, 4H), 2.91 (s, 1H), 4.20 (s, 1H), 8.02 (dd, 4H), 10.3 (s, 1H), 12.5 (s, 1H).

^{13}C RMN (350 MHz, DMSO) δ (ppm): 176.92, 171.36, 139.70, 132.19, 119.85, 116.76, 84.63, 80.27, 41.34, 31.96, 21.34

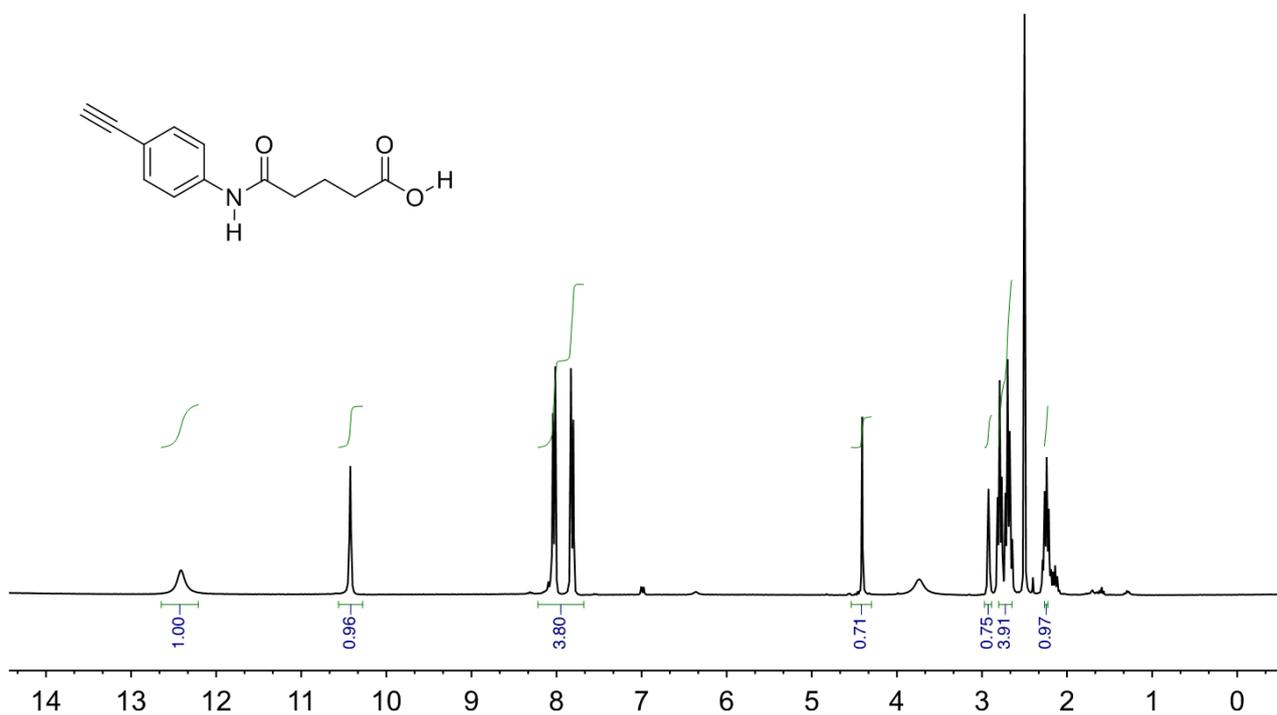


Figura 28: Espectro de $^1\text{H-RMN}$ de 4 (350 MHz, DMSO)

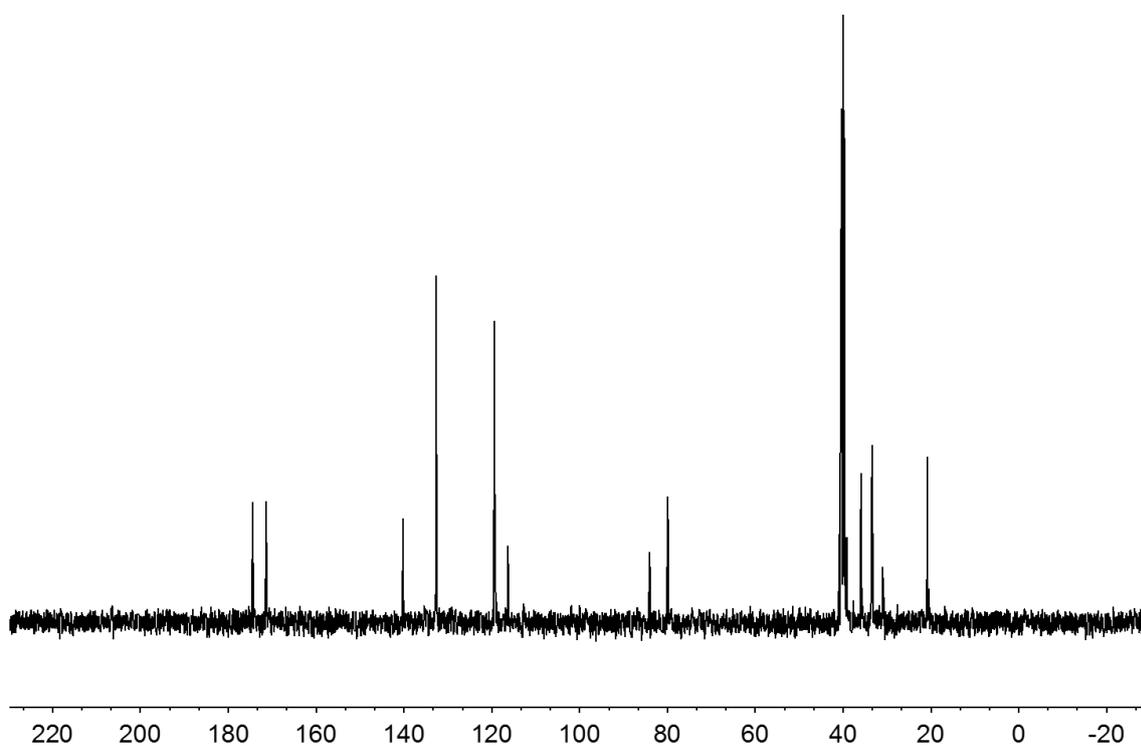
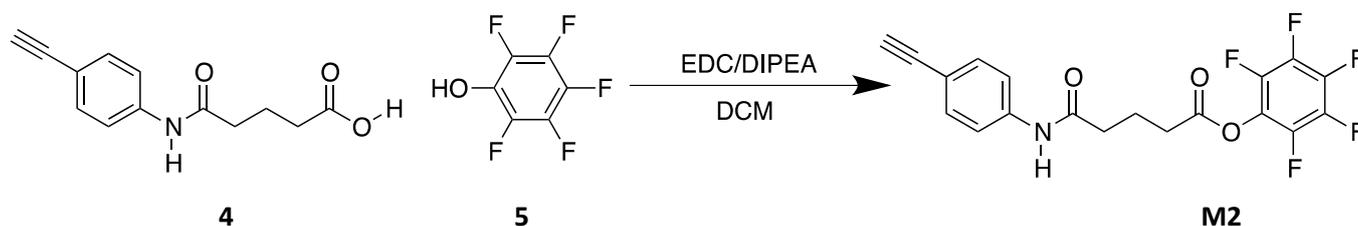


Figura 29: Espectro de $^{13}\text{C-RMN}$ de 4 (350 MHz, DMSO)

b) Síntesis del perfluorofenil 5-((4-etinilfenil)amino)-5-oxopentanoato (M2)



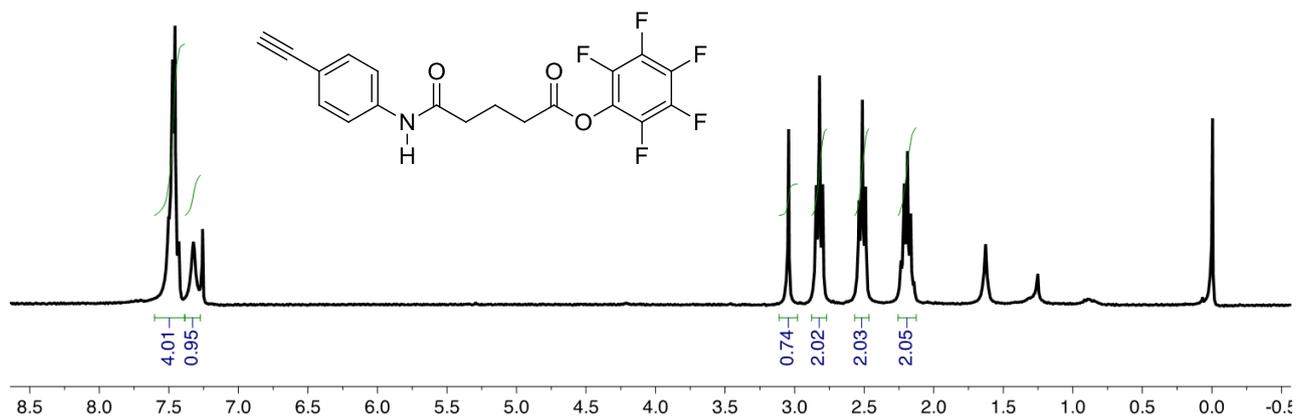
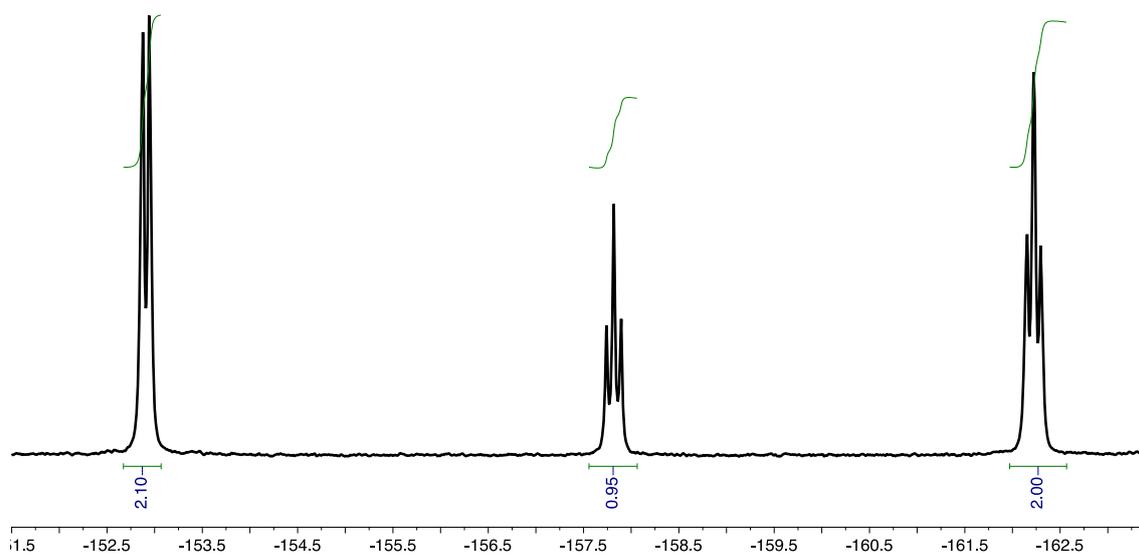
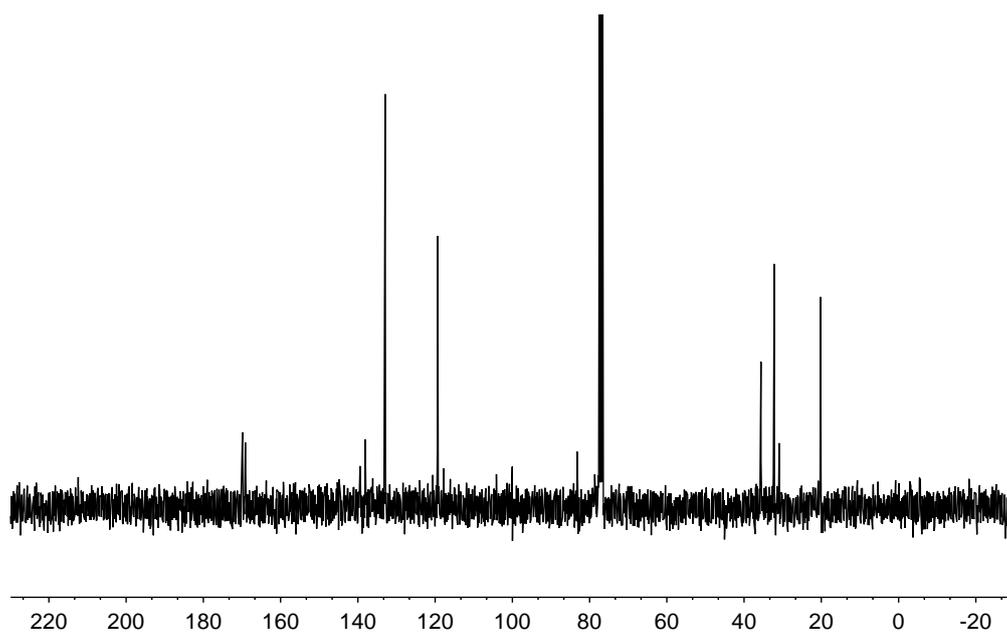
A una disolución de ácido 5-((4-etinilfenil)amino)-5-oxopentanoico (**4**) (0.285 g, 1.232 mmol) en diclorometano (30 mL) añadimos EDC (0.236 g, 1.232 mmol) y DIPEA (0.174 g, 1.344 mmol). A continuación se añadió el 2,3,4,5,6-pentafluorofenol (**5**) (0.206 g, 1.12 mmol). La mezcla se dejó bajo agitación, a temperatura ambiente y en atmósfera inerte durante toda la noche.

Posteriormente, el producto se concentra y purifica mediante cromatografía en columna de gel de sílice eluyendo con hexano/acetato de etilo (70:30) obteniéndose el monómero **M2** puro con un rendimiento del 71,1% (0.278 g).

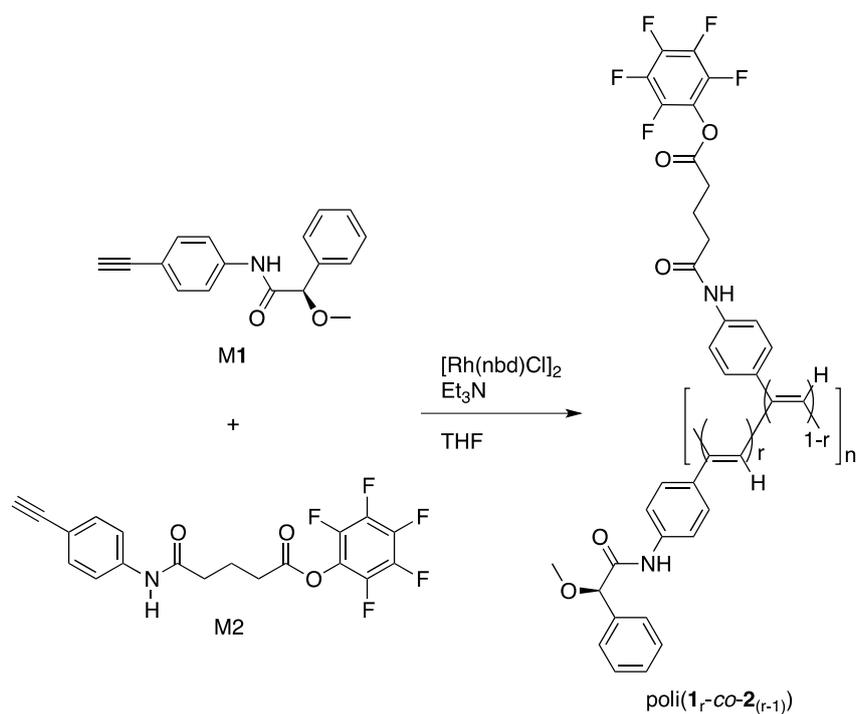
^1H RMN (350 MHz, CDCl_3) δ (ppm): 2.21 (m, 1H), 2.59 (m, 2H), 2,86 (m, 2H), 3.1 (s, 1H), 7.39 (s, 1H), 7,52 (s, 4H)

^{19}F RMN (350 MHz, CDCl_3) δ (ppm): -152.71 (d, 2F), -157.82 (t, 1F), -162.25 (t, 2F)

^{13}C RMN (350 MHz, CDCl_3) δ (ppm): 171.24, 170.10, 142.44, 142.05, 135.63, 82.35, 81.47, 39.19, 36.35, 20.61

Figura 30: Espectro de ^1H -RMN de M2 (350 MHz, CDCl_3)Figura 31: Espectro de ^{19}F -RMN de M2 (350 MHz, CDCl_3)Figura 32: Espectro de ^{13}C -RMN de M2 (350 MHz, CDCl_3)

3) Copolimerización



En primer lugar es necesario calcular la cantidad de **M1** y **M2** necesaria para llevar a cabo la reacción de polimerización, ya que se obtendrán polímeros cuya proporción entre ambos monómeros será diferente.

Copolímero	M1 (mg)	M1 (mmol)	M2 (mg)	M2 (mmol)	$[\text{Rh}(\text{nbd})\text{Cl}]_2$ (mg)	THF (mL)	Et_3N (μL)	R (%)
Poli($\mathbf{1}_{90}\text{-copo-}\mathbf{2}_{10}$)	45.1	0.170	6.60	0.0189	0.871	0.378	2.52	91
Poli($\mathbf{1}_{93}\text{-copo-}\mathbf{2}_7$)	46.6	0.176	4.62	0.0132	0.871	0.378	2.52	94
Poli($\mathbf{1}_{95}\text{-copo-}\mathbf{2}_5$)	47.6	0.179	3.30	0.0094	0.871	0.378	2.52	85
Poli($\mathbf{1}_{97}\text{-copo-}\mathbf{2}_3$)	48.7	0.183	1.98	0.0058	0.871	0.378	2.52	93
Poli($\mathbf{1}_{98}\text{-copo-}\mathbf{2}_2$)	49.2	0.185	1.32	0.0038	0.871	0.378	2.52	89

Tabla 1: Cantidades de M1, M2, catalizador, disolvente y base

Copolímero	Mn	Mw	Mz	PDI
Poli(1 ₉₀ - <i>copo</i> - 2 ₁₀)	11055	14395	22694	1.30
Poli(1 ₉₃ - <i>copo</i> - 2 ₇)	10160	22273	116364	2.19
Poli(1 ₉₅ - <i>copo</i> - 2 ₅)	29881	178176	991062	5.90
Poli(1 ₉₇ - <i>copo</i> - 2 ₃)	32212	107078	504557	3.32
Poli(1 ₉₈ - <i>copo</i> - 2 ₂)	14995	29524	37559	1.96

Tabla 2: Datos de SEC para Poli(**1**_r-*co*-**2**_(1-r))

A continuación se describirá el procedimiento de obtención del copolímero Poli(**1**₉₀-*copo*-**2**₁₀), siendo el procedimiento análogo para todos los copolímeros restantes, variando únicamente la proporción entre ambos monómeros.

La reacción de polimerización se llevó a cabo en un tubo sellado, previamente secado a vacío y bajo atmosfera inerte. A una disolución del monómero **1** (0.045 g, 0.170 mmol) y monómero **2** (6.60×10^{-3} g, 1.89×10^{-2} mmol) en THF seco (0.300 mL) se añadió el catalizador de $[\text{Rh}(\text{nbd})\text{Cl}]_2$ (0.871 mg, 1.89×10^{-3} mmol), previamente disuelto en THF seco (100 μL) y una pequeña cantidad de Et_3N (5.00 μL). La mezcla de reacción resultante se dejó en agitación a 30°C durante 24 h.

Una vez transcurrida la reacción, se disolvió la mezcla final en la mínima cantidad de CH_2Cl_2 y se repartió en dos tubos de teflón añadiendo sobre la disolución una gran cantidad de éter para precipitar el polímero que finalmente fue separado mediante centrifugación. El proceso de precipitación en éter y centrifugación se repitió una vez más y finalmente se hizo un último lavado con hexano.

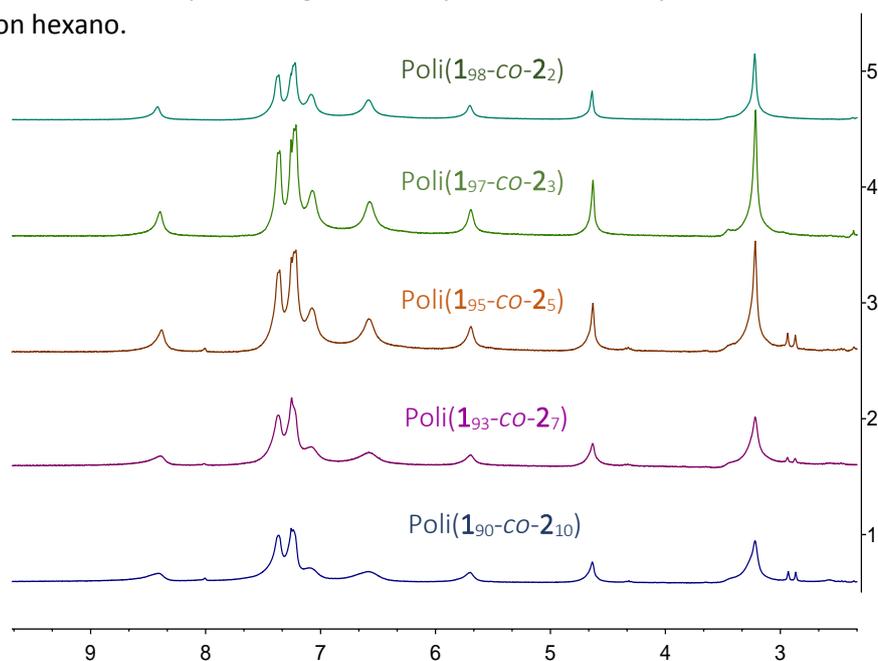


Figura 33: Espectros ^1H -RMN para la serie Poli(**1**_r-*co*-**2**_(1-r))

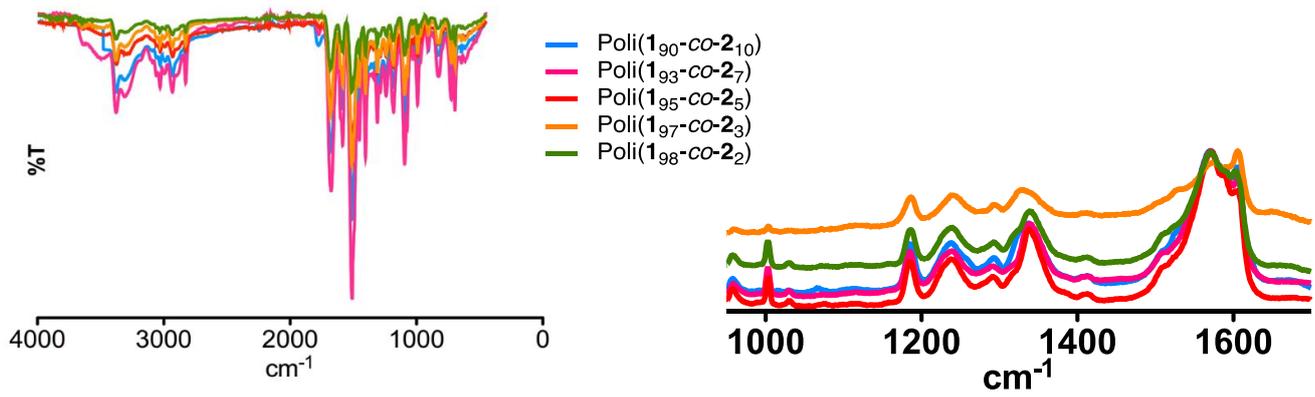


Figura 34: Espectro IR (izquierda) y Raman (derecha) de la serie Poli(1_r-co-2_(1-r))

4) Síntesis de nanopartículas de oro

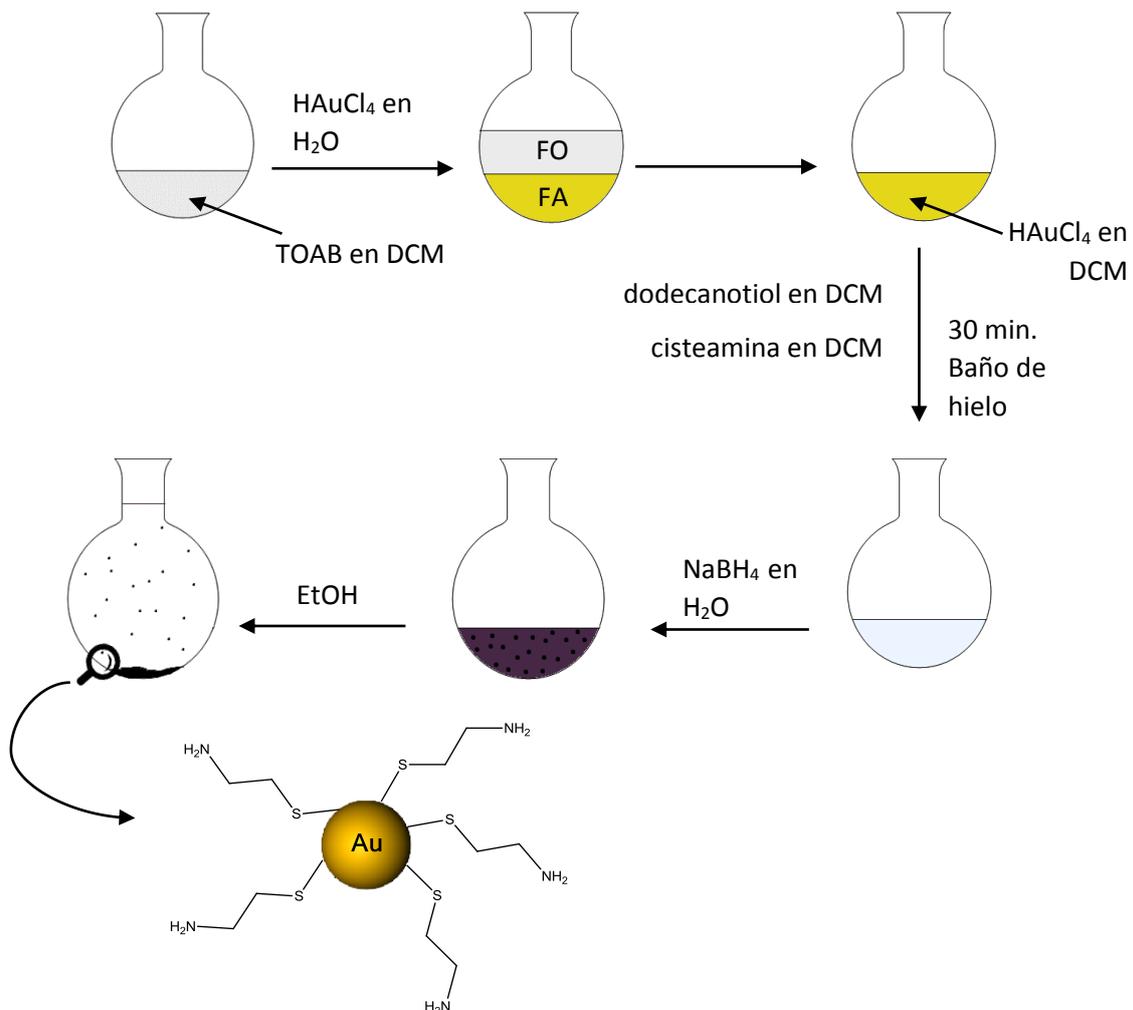


Figura 35: Representación esquemática del proceso de síntesis de AuNP con el recubrimiento amino funcionalizado con tiol.

A una disolución de TOAB (0.222 g, 0.406 mmol) en diclorometano (10.0 mL) se le añade una disolución de trihidrato cloruro de oro (0.040 g, 0.102 mmol) en H₂O destilada (0.625 mL). La adición se realiza bajo agitación y con atmósfera inerte, condiciones que se mantendrán durante todo el proceso.

A continuación se realiza una extracción, añadiendo más agua para observar la separación entre las fases.

Posteriormente se realiza la adición simultánea de una disolución de cisteamina en diclorometano (10 mg/2.5 mL) y de dodecanotiol en diclorometano (20 µL/2.5 mL). Después, es necesario esperar media hora y depositar el recipiente de reacción en un baño de hielo, pues la reacción es exotérmica. La disolución se vuelve traslúcida.

A continuación se añade NaBH₄ (0.038 g, 1.00 mmol) disuelto en H₂O destilada (1.1 mL) de manera lenta y continuada. Inmediatamente se observa la formación de una gota negra que se extiende a medida que se añade el borohidruro sódico. Al agitar la disolución se observa una coloración púrpura.

Añadimos EtOH en gran exceso y se observa la precipitación de un sólido negro. El producto permanece en la nevera durante 24 h.

Después de este tiempo, filtramos a vacío para eliminar el EtOH, mientras que las nanopartículas permanecen en la placa filtrante. A continuación, las AuNP se resuspenden en cloroformo y se concentra a vacío para eliminar el exceso de disolvente.

La disolución se pasa a un tubo de teflón, se completa con un gran exceso de tolueno y se centrifuga durante 45 minutos.

5) Conjugación del copolímero y las nanopartículas de oro

Para llevar a cabo este proceso se añade a una suspensión de AuNP de 1mg/mL, una disolución del copolímero Poli(**1**_r-co-**2**_(1-r)) 1mg/mL y se deja la mezcla bajo agitación y con atmósfera inerte.

Tras pasar un día, se observa que la suspensión de AuNP desaparece y la coloración de la disolución cambia de amarillo a verdoso.

